

**Neue Strategien zur Entwicklung von Derivaten
der Muraymycin-Antibiotika
mit verbesserter biologischer Aktivität**

Dissertation

zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

von

Daniel Wiegmann, M.Sc.

Saarbrücken

2016

Tag des Kolloquiums: 26.01.2017
Dekan: Prof. Dr. Guido Kickelbick
Berichterstatter: Prof. Dr. Christian Ducho
Prof. Dr. Rolf W. Hartmann
Vorsitz: Prof. Dr. Gerhard Wenz
Akademischer Mitarbeiter: Dr. Josef Zapp

Die vorliegende Arbeit wurde am Department Chemie der Universität Paderborn sowie im Fachbereich Pharmazie der Universität des Saarlandes in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. C. Ducho in der Zeit von November 2012 bis November 2016 angefertigt.

Für Mama

**30. Oktober 1960*

†30. August 2015

Zusammenfassung

In vorliegender Dissertation konnten erfolgreich verschiedene neuartige Muraymycin-Analoga synthetisiert und biologischen Tests unterzogen werden. Die Darstellung der Verbindungen erfolgte auf der Basis stereoselektiver, mehrstufiger und modular gestalteter Syntheserouten.

Dabei wurden neuartige Muraymycin-Prodrugs entwickelt, da viele Muraymycin-Antibiotika, wahrscheinlich aufgrund schlechter Zellgängigkeit, eine eher geringe antibakterielle Aktivität aufweisen. Da die dargestellten Verbindungen eine Aktivität gegen *E.coli* zeigten, konnte der genutzte Prodrug-Ansatz als erfolgreich angesehen werden.

Um die Rolle und Signifikanz der Position einer Aminoribose-Funktion im Muraymycin-Grundgerüst eingehender zu untersuchen, wurden erfolgreich Muraymycin-Analoga dargestellt, in denen diese Funktion über Propyllinker an verschiedene Positionen im Molekül verknüpft ist. Biologische Tests zeigten, dass die Verbindungen inaktiv waren und somit eine Möglichkeit zur Variation der Position der Aminoribose nicht gegeben ist. Offensichtlich trägt diese Funktion in ihrer nativen 5'-Position am meisten zu einer biologischen Aktivität bei.

Aus diesem Grund wurde nach umfangreichen Glycosylierungsstudien ein 5'-aminoribosyliertes Muraymycin-Analogon erfolgreich synthetisiert, welches sowohl eine sehr gute inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegen das Zielprotein MraY als auch eine antibakterielle Aktivität gegen *E.coli* aufwies.

Abstract

During this PhD-project different new muraymycin analogues were successfully synthesised and biologically tested. The syntheses were based on stereoselective multistep modular structured synthetic routes.

New muraymycin prodrugs were synthesised as many naturally occurring muraymycins show limited antibacterial activity. This might be owed to poor uptake into the bacterial cell. The prodrugs showed good activity against *E.coli*, implying that the prodrug concept worked as anticipated.

To elucidate the role and the significance of the position of an aminoribose motif which is part of most naturally occurring muraymycins, muraymycin analogues with propyl-linked aminoribose motifs in different positions in the backbone were synthesised. The biological evaluation showed that these compounds were inactive, leading to the conclusion that there is no option to alter the position of the aminoribose motif in the muraymycin scaffold. Apparently, the best position to achieve good activity is the native 5'-position.

Based on these results a 5'-aminoribosylated muraymycin analogue was synthesised after a suitable glycosylation method had been established. This compound showed strong inhibitory potency against *MraY* as well as good antibacterial activity against *E.coli* in comparison to previously synthesised muraymycin analogues.

$[\alpha]_{20}^D$	Drehwert [°] (Polarimetrie)
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
Ala	Alanin
Asp	Asparaginsäure
Äq.	Äquivalent
ATP	Adenosintriphosphat
bidest.	bidestillatus, doppelt destilliert
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
Bz	Benzoyl
bzw.	beziehungsweise
Cbz	Benzyloxycarbonyl
COSY	correlation spectroscopy (NMR)
δ	chemische Verschiebung [ppm] (NMR)
d	Dublett
DAP	<i>meso</i> -2,6-Diaminopimelinsäure
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano- <i>para</i> -benzochinon
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	Di- <i>iso</i> -propylethylamin (Hünig-Base)
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMB	2,4-Dimethoxybenzyl
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTST	Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ϵ	Molarer dekadischer Extinktionskoeffizient
e	Elementarladung
EDC	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid
EDCI	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid Hydrochlorid

EEDQ	2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin
ESI	Elektrosprayionisation (MS)
Et	Ethyl
et al.	und andere
etc.	und so weiter
EtOAc	Ethylacetat
FDA	Food and Drug Administration
FT	Fouriertransformation
ges.	gesättigt
Glc	Glucose
Glu	Glutaminsäure
Hex	Hexan
HI-Virus	Humanes Immundefizienz-Virus
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence (NMR)
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie
Hrsg.	Herausgeber
HSQC	heteronuclear single quantum coherence (NMR)
Hz	Hertz
<i>i</i>	Iso
IBX	2-Iodoxybenzoesäure
ICR	Ionencyclotronresonanz (MS)
IR	Infrarote elektromagnetische Strahlung
<i>J</i>	skalare Kopplungskonstante [Hz] (NMR)
Kat.	Katalysator
KHMDS	Kalium-Bis-(trimethylsilyl)-amid
konz.	konzentriert
λ_{max}	Wellenlängen (nm) (UV)
Lev	Lävulinyl
LevOH	Lävulinsäure
Lys	Lysin
M	molar
m	Multiplett
m/z	Masse pro Ladung [$m = u/e$] (MS)
X	

Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MIC	minimum inhibitory concentration (Minimale Inhibitorische Konzentration)
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MS	Massenspektrometrie
MTPM	Monomethoxytetrachlordiphenylmethoxymethyl
Mur	Muraminsäure
ν	Wellenzahl [cm^{-1}] (IR)
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
NOE	Nuclear Overhauser Effect
OTf	Trifluormethansulfonat
<i>p</i>	<i>para</i>
P	Phosphat
Pbf	<i>N</i> -(2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl)
PE	Petrolether
Pent	Pentan
Pg	Schutzgruppe
Ph	Phenyl
PMB	<i>para</i> -Methoxybenzyl
POC	<i>iso</i> -Propyloxycarbonyloxymethyl
POM	Pivaloyloxymethyl
PP _i	Pyrophosphat
ppm	Parts per million
Pr	Propyl
PrOH	Propanol
PS-DBU	Polymer-Supported DBU
PyBOP	(Benzotriazol-1-yloxy)- tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
q	Quartett
quant.	quantitativ
quin	Quintett
<i>R</i> _f	Retentionsfaktor (DC)

Rh	Rhodium
RNA	Ribonucleinsäure
(<i>R,R</i>)-Me-DUPHOS-Rh	(-)-1,2-Bis-((2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,5-dimethylphospholano)-benzol-(cyclooctadien)-rhodium(I)-tetrafluoroborat
Rt	Raumtemperatur
s	Singulett
s.o.	siehe oben
s.u.	siehe unten
Sg	Schutzgruppe
(<i>S,S</i>)-Me-DUPHOS-Rh	(+)-1,2-Bis-((2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-2,5-dimethylphospholano)-benzol-(cyclooctadien)-rhodium(I)-tetrafluoroborat
t	Triplett
<i>t</i>	<i>tert</i>
Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
Tces	2,2,2-Trichlorethoxysulfonyl
TES	Triethylsilyl
Tf	Trifluormethansulfonyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
TOF	Time-of-flight (MS)
Tos	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
<i>t_R</i>	Retentionszeit (HPLC)
<i>T_m</i>	Schmelzpunkt [°C]
UDP	Uridindiphosphat
UMP	Uridinmonophosphat
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
UV	ultraviolett
v.Chr.	vor Christus
vgl.	vergleiche
VIS	Sichtbare elektromagnetische Strahlung
VRE	Vancomycin-resistente <i>Enterococcus faecium</i>

1.	Einleitung	1
1.1	Antibiotika - Allgemeine Betrachtung	1
2.	Kenntnisstand	6
2.1	Klassifizierung der verschiedenen Antibiotika	6
2.2	Nucleosid-Antibiotika	8
2.3	Bakterielle Zellwand und Peptidoglycan-Biosynthese	10
2.4	Translocase I (MraY)	13
2.5	Muraymycine	17
2.5.1	Natürlich vorkommende Muraymycine	17
2.5.2	Semisynthetische Muraymycin-Analoga	20
2.5.3	Synthetische Muraymycin-Analoga	20
2.6	Das Prodrug-Konzept	28
2.7	Ribosylierungs-Reaktionen	31
3.	Aufgabenstellung und Planung der Arbeit	34
3.1	Neuartige Muraymycin-Prodrugs	34
3.1.1	Aufgabenstellung	34
3.1.2	Planung und retrosynthetische Betrachtungen	36
3.2	Propylverlinkte aminoribosylierte Muraymycin-Analoga	40
3.2.1	Aufgabenstellung	40
3.2.2	Planung und retrosynthetische Betrachtungen	41
3.3	Das (5'S,6'S)-konfigurierte 5'-aminoribosylierte Muraymycin-Analogon 97	43
3.3.1	Aufgabenstellung	43
3.3.2	Planung und retrosynthetische Betrachtungen	44
4.	Resultate und Diskussion	46
4.1	Synthese von Reagenzien und Bausteinen	46
4.1.1	Synthese von Reagenzien	46
4.1.2	Synthese von Bausteinen	47
4.2	Synthese von Phosphonaten für Wittig-Horner-Reaktionen mit dem Uridin-5'-Aldehyd 35	49
4.2.1	Synthese des <i>N</i> -Cbz-geschützten <i>tert</i> -Butylester-Phosphonats 44	50
4.2.2	Synthese des <i>N</i> -Cbz-geschützten POM-Ester-Phosphonats 79	51
4.3	Synthese von L-Leucin-abgeleiteten Aldehyden für die reduktive Aminierung von Nucleosyl-Aminosäuren	52
4.3.1	Synthese des <i>N</i> -Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds 88	52
4.3.2	Synthese des <i>N</i> -Acetyl-L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds 78	53
4.4	Synthese von propylierten Aminoribose-Derivaten für die Synthese 6'- <i>N</i> - und <i>N</i> 3-aminoribosylierter Muraymycin-Analoga	54

4.4.1	Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds 95	55
4.4.2	Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Tosylats 96	58
4.5	Synthese von Aminoribose-Derivaten für die Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion von Nucleosyl-Aminosäuren	59
4.5.1	Synthese des acetylierten Glycosyl-Donors 136	60
4.5.2	Synthese des Trichloracetimidats 137	60
4.5.3	Synthese der Thioglycoside α - 138 und β - 138	61
4.5.4	Synthese der Pentenylglycoside α - 139 und β - 139	63
4.6	Synthese von Harnstoffdipeptiden für die Peptidkupplung zu Muraymycin-Analoga mit vollständigem Grundgerüst	64
4.6.1	Synthese des POM-Ester-Harnstoffdipeptids 83	65
4.6.2	Synthese des Benzylester-Harnstoffdipeptids 86	70
4.6.3	Synthese des vollständig entschützten POM-Ester-Harnstoffdipeptids 159 als Referenzverbindung	72
4.7	Synthese des Uridin-5'-Aldehyds 35	73
4.8	Synthese von Uridin-abgeleiteten Nucleosyl-Aminosäuren	74
4.8.1	Synthese der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren	74
4.8.2	Synthese der (5'S,6'R)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure 171	84
4.8.3	Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren	87
4.9	Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 76 als Stamm- und Referenzverbindung sowie Entschützungsstudien	96
4.9.1	Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 76	97
4.9.2	Studien zur globalen sauren Entschützungsreaktion	101
4.10	Synthese der Muraymycin-Prodrugs	107
4.10.1	Synthesversuch zu einem verkürzten Prodrug der ersten Generation	107
4.10.2	Synthese des Bis-POM-Prodrugs 73	110
4.10.3	Synthese des Mono-POM-Prodrugs 74	119
4.10.4	Synthese des Mono-POM-Prodrugs 75	123
4.10.5	Biologische Evaluierung der Muraymycin-Prodrugs	125
4.11	Synthese der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga	134
4.11.1	Synthese des 6'-N-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 89 und des 6'-N-verlinkten deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 91	134
4.11.2	Synthese des N3-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 90 und des N3-verlinkten deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 92	142
4.11.3	Biologische Evaluierung der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga und ihrer deribosylierten Referenzverbindungen	148
4.12	Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons 97	150
4.12.1	Entwicklung einer Glycosylierungsreaktion für die 5'-Position TBDMS-Ether und <i>tert</i> -Butylester-geschützter Nucleosyl-Aminosäuren	150

4.12.2	Untersuchungen der reduktiven Aminierung mit (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren	166
4.12.3	Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons 97	168
4.12.4	Biologische Evaluierung des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons 213	180
5.	Zusammenfassung	183
6.	Ausblick	192
7.	Experimentalteil	196
7.1	Allgemeines	196
7.1.1	Allgemeine Arbeitsweisen	196
7.1.2	Edukte und Reagenzien	196
7.1.3	Lösungsmittel	196
7.1.4	Absolute Lösungsmittel	197
7.1.5	Chromatographie	198
7.1.6	Spektroskopie und Spektrometrie	199
7.1.7	Geräte	202
7.2	Praktische Arbeiten	203
7.2.1	Synthese von Reagenzien und Bausteinen	203
7.2.2	Synthese von Phosphonaten für die Wittig-Horner-Reaktionen mit dem Uridin-5'-Aldehyd 35	210
7.2.3	Synthese von L-Leucin-abgeleiteten Aldehyden für die reduktive Aminierung von Nucleosyl-Aminosäuren	214
7.2.4	Synthese von propylierten Aminoribose-Derivaten für die Synthese 6'-N- und N3-aminoribosylierter Muraymycin-Analoga	218
7.2.5	Synthese von Aminoribose-Derivaten für die Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion von Nucleosyl-Aminosäuren	228
7.2.6	Synthese von Harnstoffdipeptiden für die Peptidkupplung zu Muraymycin-Analoga mit vollständigem Grundgerüst	235
7.2.7	Synthese des Uridin-5'-Aldehyds 35	250
7.2.8	Synthese von Uridin-abgeleiteten Nucleosyl-Aminosäuren	254
7.2.9	Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 76	281
7.2.10	Synthese der Muraymycin-Prodrugs	285
7.2.11	Synthese der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga	296
7.2.12	Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons 213	315
7.3	Biologische Arbeiten	341
7.3.1	Fluoreszenz-basierter MraY-Assay	341
7.3.2	Antibakterielle Aktivitätsmessungen	341
7.3.3	Stabilitätsassays in biologischen Medien	342

8.	Literaturverzeichnis	344
9.	Anhang	361
9.1	HPLC-Methoden	361
9.1.1	Analytische HPLC-Methoden	361
9.1.2	Semipräparative HPLC-Methoden	361
9.2	LC-MS/MS-Methoden für die Stabilitätsmessungen der Muraymycin-Prodrugs	363
9.3	Lebenslauf	364
	Danksagung	367

1. Einleitung

1.1 Antibiotika - Allgemeine Betrachtung

"The time may come when penicillin can be bought by anyone in the shops. Then there is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant."^[1]

Die Zeit wird kommen, in der Penicillin von jedermann in Geschäften gekauft werden kann. Dadurch besteht die Gefahr, dass der Unwissende das Penicillin in zu niedrigen Dosen verwendet. Indem er die Mikroben nun nicht-tödlichen Mengen aussetzt, macht er sie resistent. Wie Recht Alexander Fleming mit dieser Aussage in seiner Rede anlässlich der Nobelpreisverleihung im Jahre 1945 hatte. Als einer von wenigen erkannte er, dass die Menschheit nur wenige Jahrzehnte später einer Problematik gegenüberstehen würde, deren Ausmaß auch Alexander Fleming nicht erahnt hätte.

1941, nur vier Jahre zuvor, wurde das Wort Antibiotika von einem anderen Nobelpreisträger, Selman A. Waksman, als Substanzklasse etabliert.^[2,3] Hierbei setzt sich das Wort Antibiotika aus den altgriechischen Wörtern "anti" (gegen) und "bios" (Leben) zusammen. Diese Substanzklasse umfasst niedermolekulare von Mikroorganismen gebildete Sekundärmetabolite, die imstande sind andere Mikroorganismen im Wachstum zu hindern oder diese sogar abzutöten.^[4] Das Konzept der "Antibiose", auf das sich Waksman bezog wurde schon früher im Jahre 1889 von Paul Vuillemin geprägt,^[5] wobei die heutige Definition des Wortes Antibiotikum sich mehr auf einen Verwendungszweck als auf den eigentlichen Ursprung bezieht. Aus medizinischer und pharmazeutischer Sicht schließt sie Naturstoffe und synthetische Verbindungen ein, die zur Behandlung bakterieller Infektionen zum Einsatz kommen.^[6]

Die früheste Dokumentation der Heilung bei Hautinfektionen, die als eine der ersten humanmedizinischen Anwendungen von Antibiotika gesehen werden kann, stammt bereits aus dem Jahre 1000 v. Chr., als in China fauliger Sojabohnenquark eingesetzt wurde.^[6] Nachdem Louis Pasteur 1877 in der frühen Neuzeit dieselbe Beobachtung wie später Waksman machte, dass sich Mikroorganismen in ihrem Wachstum gegenseitig beeinflussen,^[7] wurden in der Folgezeit einige antibiotisch wirksame Substanzen identifiziert, doch fanden weder diese, noch Alexander Flemings Entdeckung aus dem Jahre 1928, dass das Wachstum von *Staphylococcus aureus* durch den Schimmelpilz *Penicillium notatum* gehemmt wird,^[8] angemessene Anerkennung.

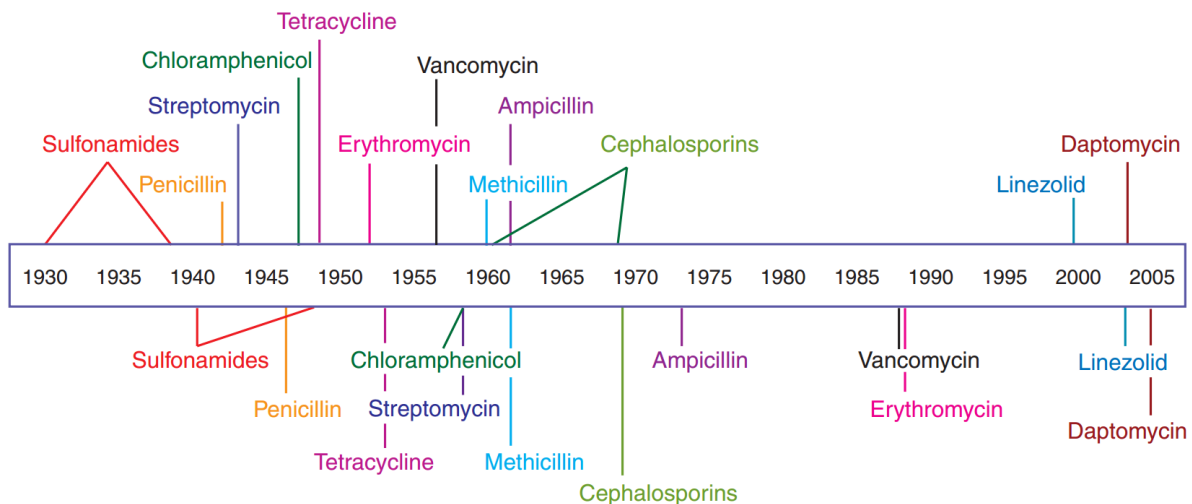
Im Verlauf des Zweiten Weltkrieges stieg die Zahl der Infektionserkrankungen, speziell der Wundinfektionen, rapide an und die Nachfrage nach neuen Medikamenten wurde größer. Jedoch ohne Kausalzusammenhang zum Zweiten Weltkrieg wurde der Wirkstoff, dem Fleming bereits den Namen *Penicillin* gegeben hatte, 1940 schließlich aus besagtem Schimmelpilz von Florey, Chain und Mitarbeitern als erstes Antibiotikum isoliert.^[9] Damit war der Grundstein für eine großtechnische fermentative Produktion gelegt und die Folgejahre wurden als sogenannte „Goldene Ära“ der antibiotischen Wirkstoffforschung bekannt, in der weltweit zahlreiche neue antibakteriell aktive Substanzen entwickelt beziehungsweise entdeckt wurden (Abb. 1.1). Bei der Erforschung und Etablierung neuer Antibiotika wurden im Allgemeinen zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt. Einerseits wurde ein rein biologischer Ansatz gewählt, in dem Methoden entwickelt wurden, um biologisch aktive Naturstoffe zu isolieren und zu charakterisieren. Andererseits wurde auf eine rein chemische Methodik zurückgegriffen, um auch zahlreiche Antibiotika, die in der Natur nicht auftreten, auf vollständig synthetischem Wege herzustellen.^[10] In einem später genutzten dritten Ansatz konnten Naturstoffe chemisch modifiziert werden um deren antibiotische Aktivität zu verbessern und das komplexe Anforderungsprofil zur Zulassung als Medikament zu erfüllen.^[11] Diese Methodik bildet den Übergang zwischen Naturstoffisolierung und vollsynthetischer Herstellung und wird daher auch als semisynthetischer Ansatz bezeichnet. Die Gefahr durch bakterielle Infektionen schien auf Dauer abgewendet. Bis in die 60er Jahre hinein gelangten schnell viele neue Antibiotika zur medizinischen Reife. Niemand dachte in dieser Zeit noch an die mahnenden Worte Alexander Flemings und so kam es häufig zu sehr verschwenderischem Einsatz von Antibiotika. Der Grundstein für das nahende Problem war jedoch bereits gelegt und die Resistenzentwicklung von Bakterien gegenüber vielen Antibiotika hatte bereits begonnen (Abb. 1.1).

Unter Antibiotika-Resistenz wird im Allgemeinen die natürlich vorhandene oder erworbene Unempfindlichkeit von Mikroorganismen gegenüber antibiotisch aktiven Substanzen verstanden.^[6] Ende 2011 wurde belegt, dass kein Antibiotikum dauerhaft unempfindlich für diesen natürlichen Prozess der Resistenzbildung ist, der einen bereits über 30000 Jahren alten Vorgang beschreibt.^[12] Durch direkten Kontakt des Antibiotikums mit dem Bakterium wird ein Selektionsdruck ausgeübt und es entwickeln sich auf diese Weise resistente Organismen.^[13]

Diese Resistenzbildung schreitet immer weiter voran, was zu einer ständig steigenden Nachfrage nach neuen Antibiotika führt. Gleichzeitig hat die Pharmaindustrie zur momentanen Problematik einer Entwicklungslücke in den letzten Jahrzehnten beigetragen, da

sie die Forschungsbemühungen auf dem Gebiet der Antibiotika zunehmend reduzierte.^[14] Schon mit Beginn der 70er Jahre, Alexander Flemings Mahnung außer Acht lassend, kamen immer weniger neue Antibiotika auf den Markt (Abb. 1.1). Dabei spielten nicht ausschließlich ökonomische Faktoren, sondern möglicherweise auch die ausschließliche Fokussierung auf chemische Modifikationen bereits bekannter Antibiotika anstatt einer Entwicklung völlig neuartiger antibiotisch aktiver Substanzen und der Suche nach neuen Leitstrukturen zur Adressierung neuer Targets eine Rolle.^[15] So wurden zwischen 1983 und 1987 von der FDA noch 16 antibiotisch aktive Substanzen als Medikamente neu zugelassen, wohingegen es von 2004 bis 2008 nur noch fünf waren.^[16] Und so verschärft sich die Problematik, da aus der Entwicklungslücke langsam eine Versorgungslücke entsteht und die Nachfrage nach neuen Antibiotika nicht gedeckt werden kann.^[17]

Antibiotic deployment



Antibiotic resistance observed

Abb. 1.1: Zeitstrahl der Antibiotika-Entwicklung und beobachteter Entwicklung von Antibiotika-Resistenzen (aus: Clatworthy et al., *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 541.^[18]).

Auf welche Weise Bakterien in der Lage sind, Resistenzen gegenüber Antibiotika zu entwickeln, wurde anhand von zahlreichen mechanistischen Konzepten erarbeitet. Dazu gehören eine Modifizierung des Targetproteins,^[13] eine enzymatische Inaktivierung des Antibiotikums,^[19] eine Erhöhung der Penetrationsbarrieren,^[20] eine Verstärkung des Efflux^[21] und die Bildung von Ersatzenzymen für die entsprechend blockierte Stoffwechselreaktion.^[22] Des Weiteren können Mikroorganismen Resistenzen durch Konjugation übertragen, wenn die entsprechenden Gene auf mobilen Plasmiden lokalisiert sind, wodurch ein resistenter Erreger keinen Kontakt zum Antibiotikum benötigt.^[22]

Wie beschrieben ist bisher kein Antibiotikum dauerhaft vor Resistenzbildung sicher. Jedoch wird dieser Prozess durch die aktuelle Medizin und Landwirtschaft aktiv beschleunigt. Der Einsatz von Antibiotika kann in der Landwirtschaft zu Resistenzbildungen führen, die durch natürliche Prozesse auf für den Menschen pathogene Stämme weiter gegeben werden.^[23] Eine weitere Ursache stellt ein verschwenderischer Umgang mit Ressourcen an antibiotisch aktiven Substanzen in der Humanmedizin dar, wodurch schneller und gehäuft Antibiotikaresistenzen auftreten können.^[24]

Die prominentesten resistenten, auch als Krankenhauskeime bekannten, Bakterien-Stämme sind Carbapenem-resistente Enterobakterien (CRE),^[25] β -Lactamase produzierende Enterobakterien (ESBL),^[25] Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium* (VRE),^[25,26] und der wohl bekannteste Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA),^[16,27] wobei der Name historisch begründet ist, diese Keime aber heutzutage Resistenzen gegen viele weitere Klassen von Antibiotika ausgebildet haben und somit als multiresistent betrachtet werden können.^[11] Laut einer Statistik von 2008 infizieren sich in den USA pro Jahr 100000 Menschen mit MRSA-Keimen. Dabei verlaufen 19% der Erkrankungen tödlich, was derzeit mehr Todesfällen entspricht, als durch das HI-Virus pro Jahr in den USA herbeigeführt werden.^[16] Diese Zahlen könnten sich in den letzten Jahren noch weitaus verschlimmert haben, da eine Langzeitstudie zeigt, dass die Methicillin-Resistenzen beobachteter *Staphylococcus-aureus*-Stämme von 2% im Jahr 1992 über mehr als 40% Anfang des Jahrtausends auf bis zu 60-70% angestiegen sind.^[16,28]

Des Weiteren wurde in Indien Anfang 2012 ein Tuberculose-Stamm gefunden, der gegen alle verfügbaren Medikamente resistent war und daher *totally drug-resistant tuberculosis* genannt wurde.^[29]

Die Existenz dieser Stämme in Verbindung mit dem Fakt, dass die Entdeckung neuer Klassen von Antibiotika und die Entwicklung neuer Antibiotika in den letzten Jahren und Jahrzehnten stark zurück gegangen ist,^[14] veranlasst zahlreiche Experten zu dem Glauben, dass die Katastrophe einer nicht schließbaren Versorgungslücke bereits nicht mehr aufzuhalten ist. Dabei wird vor dem realen Risiko einer Pandemie bakterieller Infektionen und dem Ende der Wirksamkeit von Reserve-Antibiotika gewarnt.^[17] Die Angst vor den in den Medien als "Superbugs" bezeichneten Bakterien ist allgegenwärtig und wird mit Schlagzeilen wie "*Drug-Resistant Superbugs are a 'Fundamental Threat', WHO says*" (NBC News)^[30] weiter angefacht.

Als Reaktion wurde die FDA Anfang des Jahres 2012 aktiv und schränkte nach europäischem Vorbild den Gebrauch von Antibiotika in der Landwirtschaft deutlich ein. Ein im November

2011 durch die EU verabschiedetes 350 Millionen Euro teures Forschungsprojekt sollte zudem in einer effektiven Strategie zur Bekämpfung von Antibiotika-Resistenzen resultieren.^[31] Außer Frage steht, dass die Erarbeitung innovativer Strategien zur Entdeckung von antibiotisch aktiven Substanzen, mit im besten Fall neuen Wirkmechanismen niemals wichtiger war,^[32] wobei auch das bessere Verständnis der Resistenzentwicklung neue Möglichkeiten erschließen kann.^[33] Auch die Zellwand-Biosynthese bietet in diesem Zusammenhang als klassisches Target klinisch bisher nicht genutzte Enzyme und damit großes Potential bezüglich einer antibakteriellen Therapie.^[34]

Aufgrund der beschriebenen aktuellen und brisanten Entwicklungslage sollte heutzutage jeder begriffen haben, dass die Gefahr besteht, dass die Gesundheitsversorgung in Zukunft massiv beeinträchtigt sein könnte. Denn sollten sich vor allem Erreger wie *der totally drug-resistant tuberculosis* weiter ausbreiten, könnte sich die Menschheit bald auf einen Stand von vor 100 Jahren zurückgeworfen sehen. Eine zukünftige Fokussierung der Anstrengungen und Ressourcen auf die Entwicklung antibiotischer Wirkstoffe auf der Grundlage neuer Leitstrukturen zur Adressierung neuer Targets ist also unabdingbar. Das Wichtigste ist jedoch, dass mit neuen medizinisch zugelassenen Antibiotika in Zukunft wesentlich bewusster und verantwortungsvoller in Landwirtschaft und Medizin umgegangen werden muss. Auf diese Weise könnte die Versorgungslücke geschlossen und die Gefahr einer Pandemie letztendlich abgewendet werden.

2. Kenntnisstand

2.1 Klassifizierung der verschiedenen Antibiotika

Eine zweifelsfreie Einordnung einzelner Antibiotika anhand der Wirkweise in bakteriostatische Substanzen, welche die Vermehrung und das Wachstum von Bakterien behindern, und bakteriozide Verbindungen, die zum Zelltod der Bakterien führen, ist nicht immer möglich. Anhand ihrer Wirkorte sowie ihrer Wirkmechanismen stellt sich eine Klassifizierung von Antibiotika wesentlich eindeutiger dar. Dabei sind vier sogenannte klassische Targets zu betrachten, die bakterielle Zellwand-Biosynthese (Abb. 2.1a), die bakterielle Protein-Biosynthese (Abb. 2.1b), die bakterielle Replikation der DNA oder RNA (Abb. 2.1c) und der bakterielle Folat-Metabolismus (Abb. 2.1d).^[10] Der Großteil der Wirkmechanismen antibiotisch aktiver Substanzen adressiert eines dieser vier Targets.

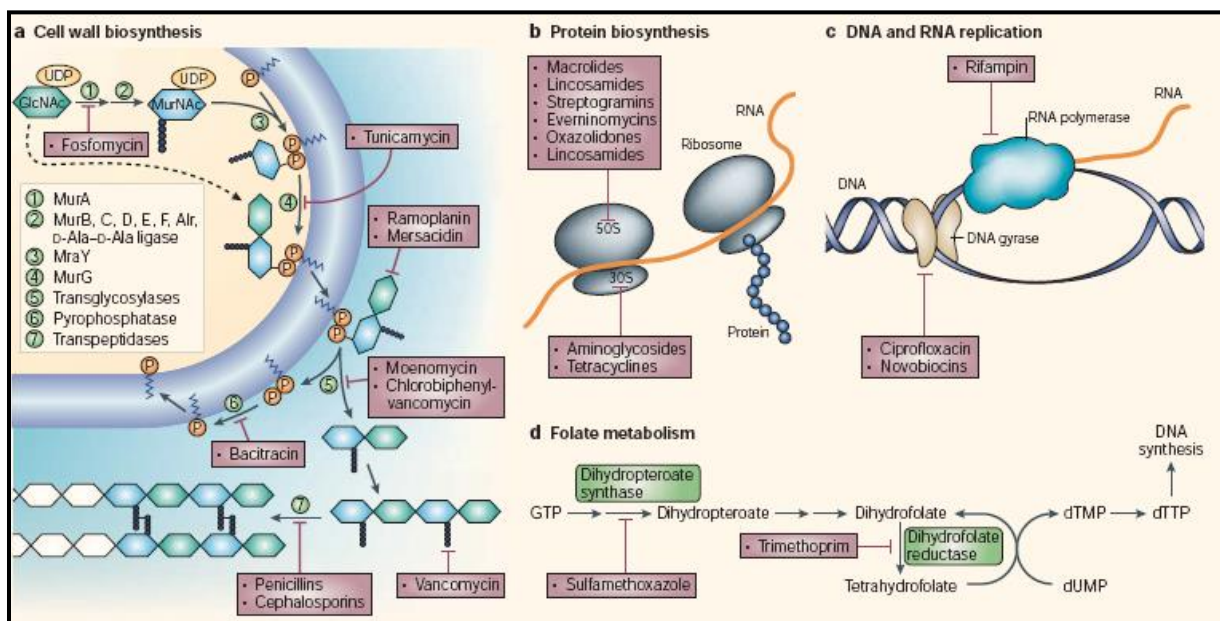


Abb. 2.1 Vier der klassischen Targets antibiotisch aktiver Substanzen (aus: C. Walsh, *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, 1, 65-70.^[10]).

Die bakterielle Zellwand-Biosynthese findet in eukaryotischen Zellen keine Entsprechung, da dort keine Zellwand existiert und stellt damit ein attraktives Target dar.^[35] Sie beinhaltet hauptsächlich eine Sequenz von chemischen Reaktionen (Schritt 1-7 (Abb. 2.1a)), wobei die Synthese der Disaccharid-Intermediate innerhalb der Bakterienzelle und deren Verbindung und Quervernetzung außerhalb dieser ablaufen. Dabei spielen verschiedene essentielle Enzyme eine Rolle, die durch spezifische Antibiotika inhibiert werden können, was im

Folgenden zum Absterben der Bakterienzelle führt. Dabei fällt auf, dass die intrazellulären Syntheseschritte bisher noch sehr spärlich adressiert sind (Abb. 2.1a, violett).

Bakterielle Ribosome stellen ebenfalls ein hochspezifisches Target für antibiotisch aktive Substanzen dar, da signifikante strukturelle Unterschiede zu eukaryotischen Ribosomen bekannt sind.^[36] Eine Bindung von spezifischen Antibiotika an die entsprechende Untereinheit bakterieller Ribosomen konnte in diesem Zusammenhang mittels röntgenkristallographischer Untersuchungen nachgewiesen werden.^[37–39]

Enzyme wie die DNA-Gyrase oder die RNA-Polymerase stellen bei der wirkungsvollen Inhibierung der bakteriellen DNA- und RNA-Replikation wichtige Targets für antibiotische aktive Substanzen dar.^[10]

Tab. 2.1 Entwicklungsgeschichte und Klassifizierung von Antibiotika
(nach: Butler und Buss, *Biochem. Pharmacol.* **2006**, 71, 919-929.^[40]).

Klasse	Jahr der Einführung	Herkunft	Beispiel	Wirkmechanismus
Sulfonamide	1935	synthetisch	Sulfapyridin	Folat-Biosynthese (d)
Penicilline	1941	Naturstoff	Penicillin	Zellwand-Biosynthese (a)
Bakterielle Peptide	1942	Naturstoff	Bacitracin	Zellwand-Biosynthese (a)
Aminoglycoside	1944	Naturstoff	Streptomycin	Protein-Biosynthese (b)
Cephalosporine	1945	Naturstoff	Cephalosporin	Zellwand-Biosynthese (a)
Chloramphenicol	1949	Naturstoff	Chloramphenicol	Protein-Biosynthese (b)
Tetracycline	1950	Naturstoff	Chlortetracyclin	Protein-Biosynthese (b)
Viomycine	1951	Naturstoff	Viomycin	Protein-Biosynthese (b)
Macrolide	1952	Naturstoff	Erythromycin	Protein-Biosynthese (b)
Lincosamide	1952	Naturstoff	Lincomycin	Protein-Biosynthese (b)
Streptogramine	1952	Naturstoff	Virginiamycin	Protein-Biosynthese (b)
Cycloserine	1955	Naturstoff	Cycloserin	Zellwand-Biosynthese (a)
Glycopeptide	1956	Naturstoff	Vancomycin	Zellwand-Biosynthese (a)
Novobiocine	1956	Naturstoff	Novobiocin	DNA-Replikation (c)
Ansamycine	1957	Naturstoff	Rifamycin	RNA-Replikation (c)
Nitroimidazole	1959	synthetisch	Tinidazol	DNA-Replikation (c)
Ethambutole	1962	synthetisch	Ethambutol	Zellwand-Biosynthese (a)
Chinoline	1962	synthetisch	Ciprofloxacin	DNA-Replikation (c)
Fusidane	1963	Naturstoff	Fusidinsäure	Protein-Biosynthese (b)
Diaminopyrimidine	1968	synthetisch	Trimethoprim	Folat-Biosynthese (d)
Phosphonate	1969	Naturstoff	Fosfomycin	Zellwand-Biosynthese (a)
Pseudominsäure	1985	Naturstoff	Mupirocin	Protein-Biosynthese (b)
Oxazolidine	2000	synthetisch	Linezolid	Protein-Biosynthese (b)
Lipopeptide	2003	Naturstoff	Daptomycin	Zellmembran-Biosynthese

Da Bakterien, anders als Säugetiere, Folsäure nicht mit der Nahrung aufnehmen können und Folsäure als unverzichtbares Intermediat in der Thymidylat-Biosynthese generieren müssen, bedeutet die Inhibierung des bakteriellen Folat-Metabolismus ein Erliegen der DNA-Synthese und somit das Absterben des Bakteriums.^[41]

Neben der Wirkweise und der Wirkorte ist eine weitere systematische Einteilung der Antibiotika anhand ihrer chemischen Struktur möglich. Tabelle 2.1 stellt die Entwicklung in der Antibiotika-Forschung sowie die Klassifizierung von Antibiotika noch einmal dar.^[40]

2.2 Nucleosid-Antibiotika

Die Nucleosid-Antibiotika sind eine Klasse von antibiotisch aktiven Naturstoffen, die einen nucleosidischen Grundkörper aufweisen. Davon abgesehen können diese aber strukturell sehr verschieden und vielfältig sein.^[35,42,43] Die Tunicamycine wurden als erste Wirkstoffe dieser Antibiotika-Klasse bereits 1971 isoliert (Abb. 2.2).^[44–46] Die den Tunicamycinen sehr ähnlichen Streptoviridine^[47–49] und Corynetoxine^[50] folgten 1975 und 1981. Sie bestehen aus einer Uridin-Kernstruktur sowie zwei *O*-glycosidisch verknüpften Zuckern, dem sogenannten Tunicamin, und einem meist ungesättigten Fettsäurerest. Die Mureidomycine^[51–53] und Pacidamycine^[54–56], welche 1989 entdeckt wurden, sowie die Napsamycine^[57] (1994) und die Sansanmycine^[58,59] (2007) sind einander strukturell eng verwandt und bestehen aus einer 3'-Desoxy-Uridineinheit mit einzigartiger Enamid-Bindung und einer nicht-proteinogenen Aminosäure, der *N*-Methyl-2,3-diaminobuttersäure. An diese schließen sich zwei aromatische Aminosäuren an (Abb. 2.2, AA) die je nach Substanzklasse variieren. Diese Wirkstoffe sind hauptsächlich gegen Gram-negative Bakterien aktiv, was sie von anderen Nucleosid-Antibiotika unterscheidet. Ebenfalls aus einem Uridin-Grundkörper aufgebaut sind die Liposidomycine (1985)^[60] und die Caprazamycine (2003)^[61,62] (Abb. 2.2), die eine lipidische Seitenkette aufweisen, welche über einen Diazepanon-Ring an den Uridin-Grundkörper bindet. Dabei beinhalten die Caprazamycine noch eine methylierte Rhamnose und sind gegen die meisten Gram-positiven Bakterien sowie gegen *M. tuberculosis* aktiv. Diese Klasse, sowie das wesentlich einfacher aufgebaute Antibiotikum FR-900493^[63,64] (1990) (Abb. 2.2), weisen einige Gemeinsamkeiten mit einer weiteren Gruppe von Nucleosid-Antibiotika, den Muraymycinen, auf.^[65] Diese enthalten einen *O*-glycosidisch gebundenen Aminoribose-Rest an der 5'-Hydroxy-Funktion sowie ein (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure-Motiv. Auf die Muraymycine, die 2002 von McDonald und Mitarbeitern isoliert wurden,^[65] wird im Folgenden näher eingegangen, weshalb an dieser Stelle auf eine Abbildung verzichtet wurde.

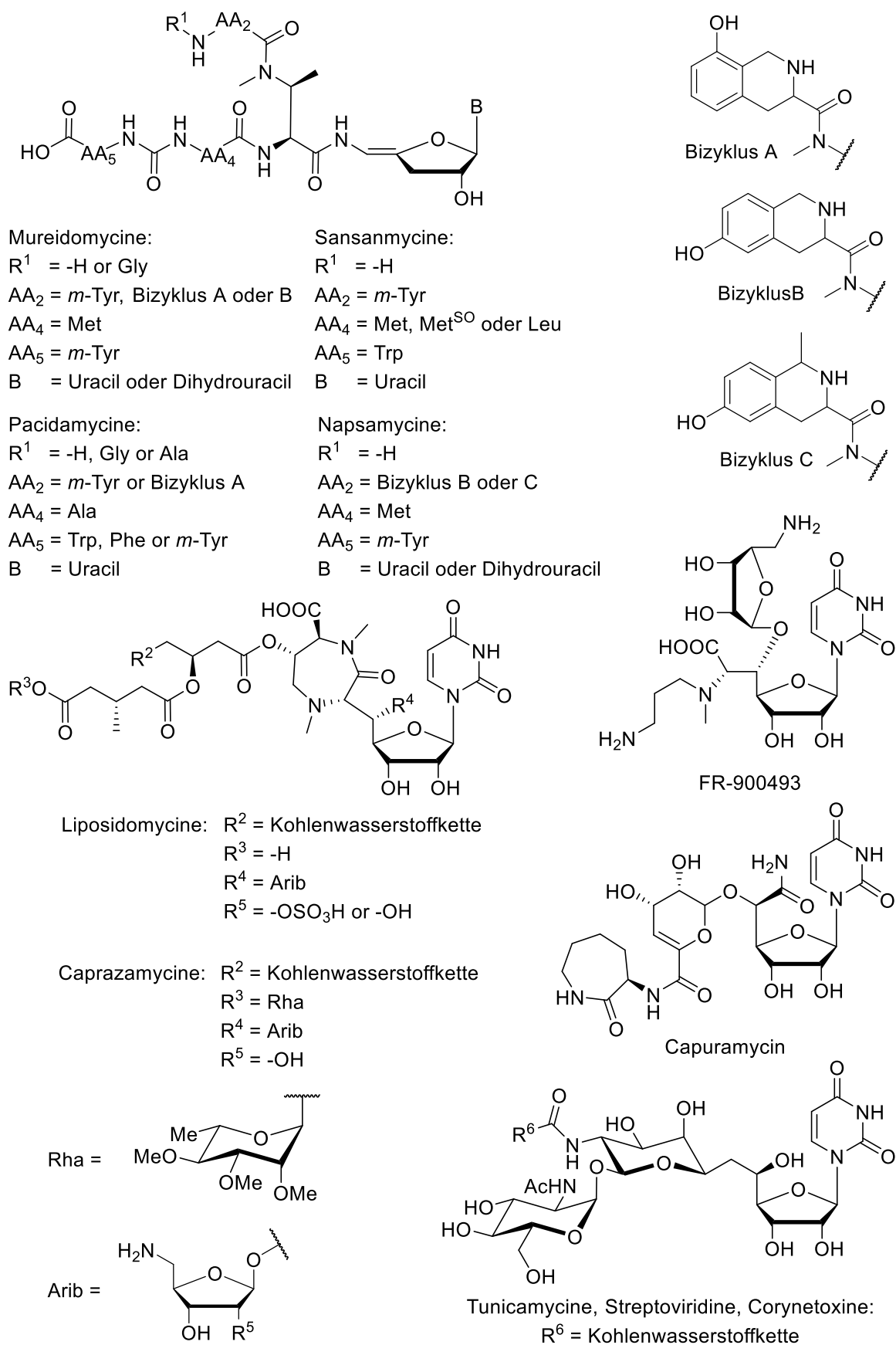


Abb. 2.2 Strukturen einiger Nucleosid-Antibiotika

(nach: G. Niro, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769.796.^[79]).

Genau wie die verwandten Capuramycine^[66,67] (1986) (Abb. 2.2) haben alle Uridin-abgeleiteten Nucleosid-Antibiotika das gleiche biologische Target und weisen den gleichen Wirkmechanismus auf, wobei es sich um die Inhibierung des bakteriellen Membranproteins Translocase I (MraY)^[65,68–70] handelt. Trotz seines für die Peptidoglycan-Biosynthese von Bakterien essentiellen Charakters und des potentiell breiten Spektrums an Substanzen, die es inhibieren, wird es bis heute noch von keinem kommerziell erhältlichen Medikament adressiert. Nach welchem konkreten Mechanismus die Inhibierung des Enzyms erfolgt, konnte bisher jedoch nicht gänzlich aufgeklärt werden.

2.3 Bakterielle Zellwand und Peptidoglycan-Biosynthese

Alle Bakterienzellen werden von einer widerstandsfähigen äußeren Schicht, der Zellwand, umgeben. Diese dient den inneren Bestandteilen als Schutz vor mechanischer Beschädigung oder osmotischer Lyse und gibt dem Bakterium die äußere Gestalt.^[71] Anhand des Aufbaus der Zellwand lassen sich Bakterien phänomenologisch klassifizieren und mithilfe der sogenannten Gram-Färbung unterscheiden.^[72] Gram-positive Bakterien sind von einer 30-100 nm dicken Polymerschicht umgeben, die aus linearen Heteropolysaccharidketten aus *N*-Acetylmuraminsäure (MurNAc) und *N*-Acetylglucosamin (GlcNAc) aufgebaut ist, welche quervernetzt eine dreidimensionale Struktur ergeben, das sogenannte Peptidoglycan. Bei Gram-negativen Bakterien hingegen ist die Zellwand mit 15 nm um ein Vielfaches dünner. Dafür dient eine zusätzliche äußere Lipid-Doppelschicht als Diffusionsbarriere, welche beispielsweise für hydrophile Antibiotika-Moleküle wenig bis gar nicht durchlässig ist.^[71] Die Zellwand besteht auch bei den Gram-negativen Vertretern und somit bei allen Bakterien aus Peptidoglycan, was die für das bakterielle Zellwachstum essentielle Peptidoglycan-Biosynthese zu einem interessanten Target für antibiotische Therapie-Ansätze macht.

Die Peptidoglycan-Biosynthese wurde in der Literatur bereits detailliert in verschiedenen Übersichtsartikeln beschrieben,^[73–78] und wird daher im Rahmen dieser Arbeit nur grob unter Angabe der entsprechenden Enzyme, die die Biosynthese katalysieren, erläutert. Dabei lässt sie sich primär in drei Hauptschritte einteilen. Die Synthese der Vorstufen erfolgt zunächst im Cytosol, im zweiten Schritt gefolgt von einer membranständigen Synthesesequenz und Transport der membrangebundenen Monomereinheiten auf die Außenseite der Lipid-Doppelschicht. Abschließend werden die Monomereinheiten dort im dritten Schritt polymerisiert und quervernetzt (Abb. 2.3)

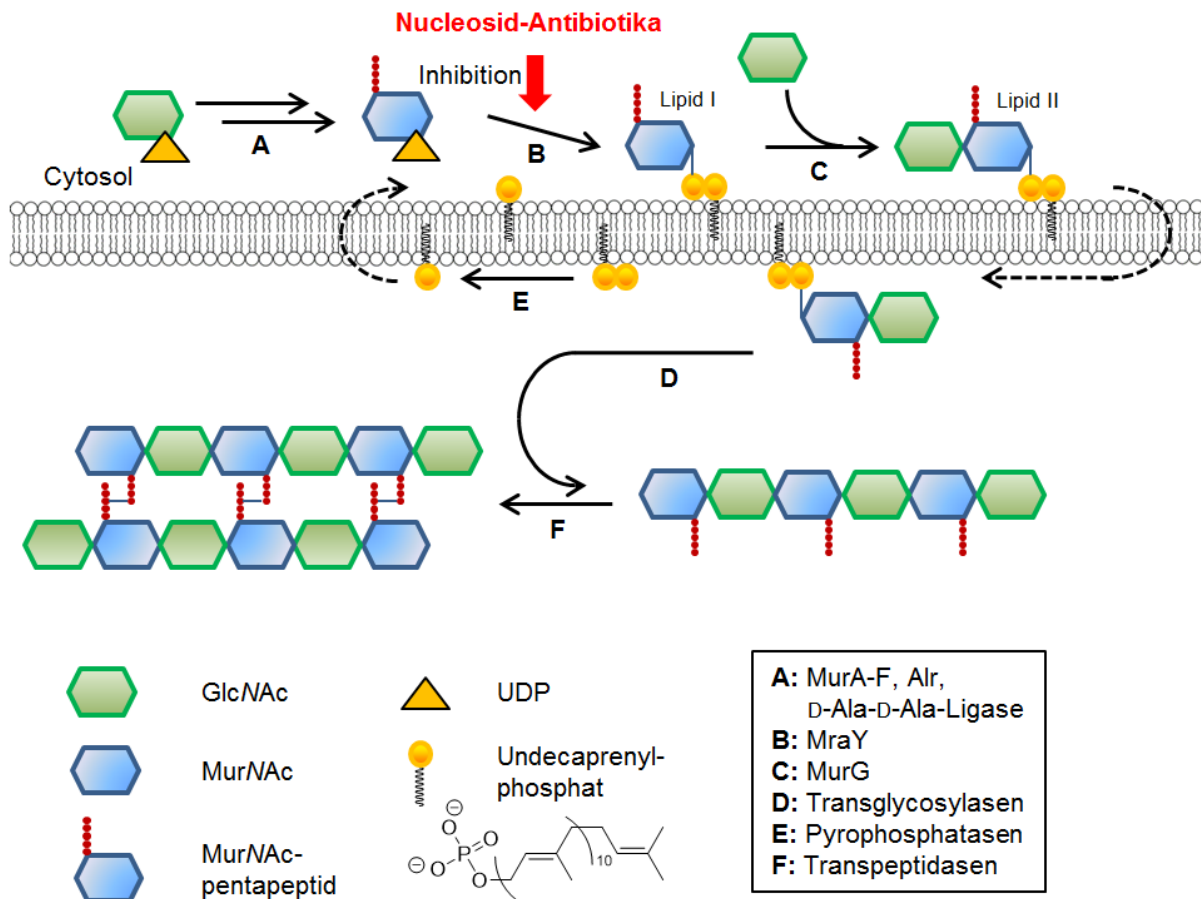


Abb. 2.3 Schematische Biosynthese von Peptidoglycan
(nach: S. Koppermann, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.^[79]).

Das elementare Substrat für die Peptidoglycan-Biosynthese ist das Uridindiphosphat-*N*-acetylglucosamin (UDP-GlcNAc),^[73] dessen Synthese ausgehend von Fructose-6-phosphat über vier Stufen mithilfe der Enzyme GlmS^[80], GlmM^[81] und GlmU^[82] verläuft.

Die Generierung des Uridindiphosphat-*N*-acetylmuraminsäure-pentapeptids (UDP-MurNAc-pentapeptid), auch Park's Nucleotid genannt, stellt den Abschluss der Reaktionsschritte im Cytosol dar (Abb. 2.3, A). Dabei variiert diese Peptidkette in ihrer Zusammensetzung je nach betrachtetem Organismus (L-Ala-γ-D-Glu-**X**-D-Ala-D-Ala, **X** = L-Lys oder *meso*-DAP), wobei die Aminosäure **X** bei Gram-positiven Bakterien vorwiegend durch L-Lysin (L-Lys) und bei Gram-negativen meistens durch *meso*-2,6-Diaminopimelinsäure (DAP) repräsentiert wird. Einige wenige Bakterienstämme können weitere Variationen aufweisen.^[35,73] Zuerst katalysiert das Enzym MurA^[83] die reversible Übertragung einer Phosphoenolpyruvat-Einheit in 3-Position auf das UDP-GlcNAc. Nachfolgend wird in einer irreversiblen Reduktion durch die Reduktase MurB^[84] ein weiterer essentieller Baustein der Peptidoglycan-Biosynthese, die Uridindiphosphat-*N*-acetylmuraminsäure (UDP-MurNAc), gebildet. Abschließend wird in vier ATP-abhängigen Stufen, katalysiert durch die Enzyme MurC bis MurF,^[85–88] das UDP-MurNAc-Pentapeptid generiert (Abb. 2.3, A), wobei die beiden D-Alanin-Reste (D-Ala) als

Dipeptid eingeführt werden.^[35,73] Die folgende Übertragung dieses Bausteins auf den Membran-gebundenen Undecaprenylphosphat-Lipidcarrier ist der Beginn des zweiten membranständigen Hauptschrittes der Peptidoglycon-Biosynthese und wird durch das Enzym Translocase I (MraY), unter der Bildung von Lipid I, katalysiert (Abb. 2.3, B). Die anschließende β -selektive Übertragung eines GlcNAc-Moleküls aus UDP-GlcNAc unter Abspaltung von Uridindiphosphat (UDP) auf das Lipid I wird unter Katalyse durch *N*-Acetylglucosaminy-Transferase (MurG) vollzogen.^[89] Daraus resultiert ein 1,4-Disaccharid, das sogenannte Lipid II (Abb. 2.3, C).^[73]

Der konkrete Mechanismus für den nachfolgenden Transport von Lipid II durch die Membran konnte bisher noch nicht aufgeklärt werden. Es wird allerdings gemutmaßt, dass eine Flippase dabei eine Rolle spielen könnte.^[76] An der Außenseite der Membran werden nun die vorliegenden Disaccharid-Derivate mithilfe von Transglycosylasen (Abb. 2.3, D) zu Polysaccharid-Ketten verknüpft, wobei der Lipidcarrier Undecaprenylphosphat durch

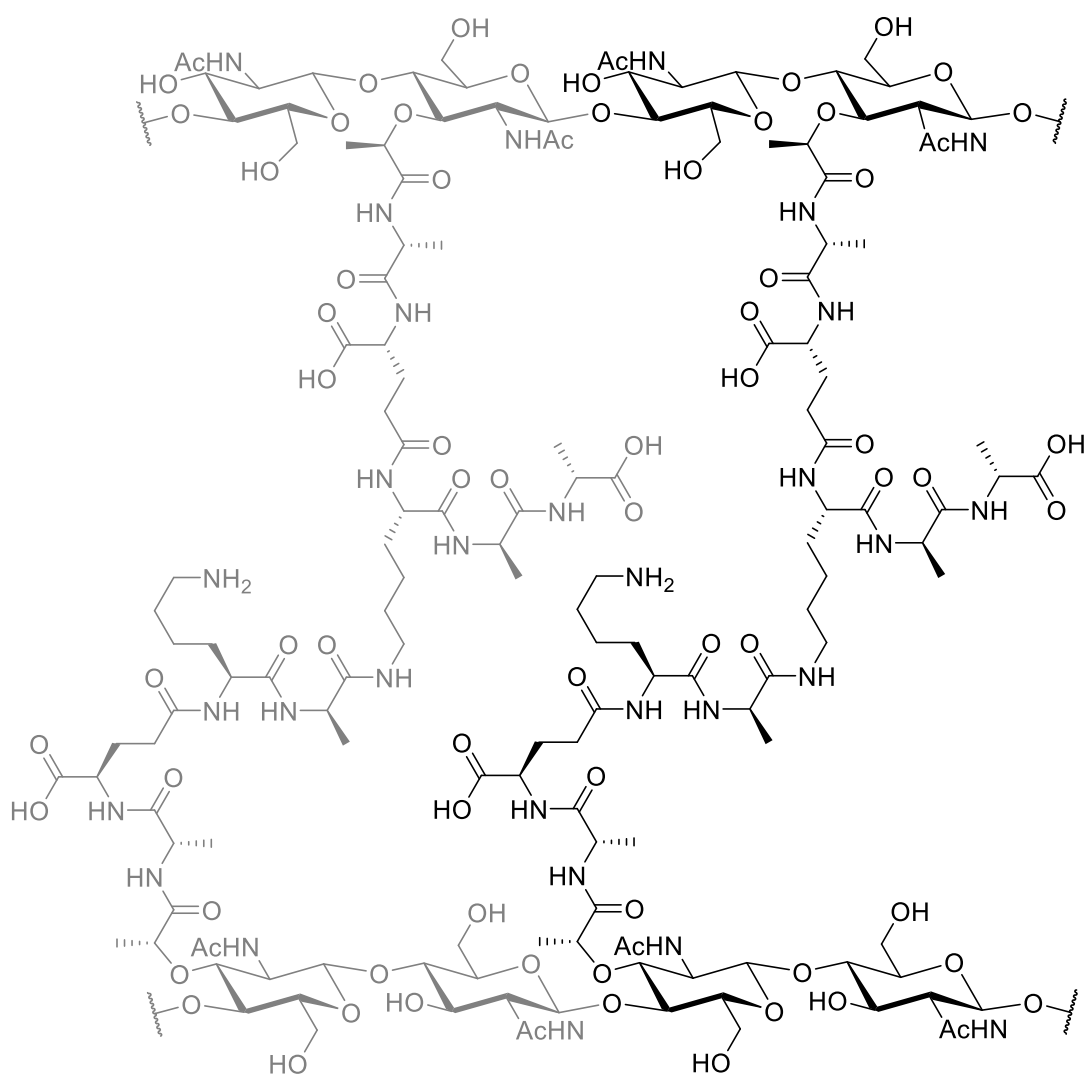


Abb. 2.4 Struktur von Peptidoglycan mit den am häufigsten auftretenden Aminosäuren des Pentapeptids (nach: S. Koppermann, aus: D. Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.^[79]).

Pyrophosphatasen wieder freigesetzt wird (Abb. 2.3, E). Abschließend werden die β -1,4-verknüpften Polysaccharid-Ketten über die Ausbildung von Amidbindungen zwischen den einzelnen Pentapeptid-Seitenketten unter der Katalyse von Transpeptidasen (Abb. 2.3, F) zur dreidimensionalen Peptidoglycan-Struktur quervernetzt (Abb. 2.4).^[35] Da die Aminosäuren in der Zusammensetzung des UDP-MurNAc-pentapeptids wie beschrieben variieren ist in Abbildung 2.4 die am häufigsten auftretende Kombination aus Aminosäuren als Beispiel aufgeführt.

2.4 Translocase I (MraY)

Es gibt eine Reihe von antibiotisch aktiven Arzneistoffen, die einen Schritt der Peptidoglycan-Biosynthese adressieren. Neben den Penicillinen sind die Cephalosporine, die Cycloserine, Vancomycin, Fosfomycin und Daptomycin prominente Beispiele.^[40] Dabei werden, mit

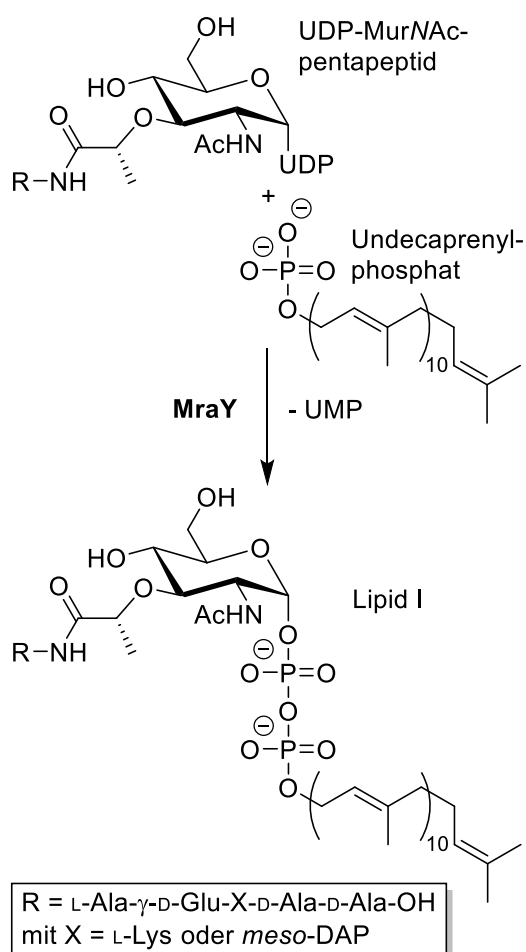


Abb. 2.5 MraY katalysierte Reaktion
(nach: S. Koppermann, aus: Wiegmann et al.,
Beilstein J. Org. Chem. **2016**, 12, 769-795.^[79]).

Ausnahme von Fosfomycin und der Cycloserine, ausschließlich späte extrazelluläre Schritte der Peptidoglycan-Biosynthese adressiert. Daraus resultiert, dass es noch einiges an Potential in der Inhibierung der frühen intrazellulären Syntheseschritte für neuartige Wirkstoffe gibt. Nucleosid-Antibiotika, die Muraymycine eingeschlossen, inhibieren das Enzym

Uridindiphosphat-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptid: Undecaprenylphosphat Phospho-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptid Transferase (Translocase I, MraY). Von Struve und Neuhaus wurde 1965 berichtet, dass dieses Enzym die Bindungsknüpfung zwischen dem cytosolischen monomeren UDP-MurNAc-pentapeptid und dem membranständigen C₅₅-Isoprenoid-Lipidcarrier Undecaprenylphosphat katalysiert, wobei unter Bildung einer Diphosphat-Bindung ein Uridylat-Rest (UMP) abgespalten und das Lipid I gebildet wird (Abb. 2.5).^[90,91] Obwohl lange bekannt war, dass diese reversible Reaktion durch das Enzym

MraY katalysiert wird, blieb die Proteinstruktur für lange Zeit unaufgeklärt.

1991 konnte von Ikeda und Coautoren gezeigt werden, dass eine Überexpression des *mraY*-Gens, dessen Name sich von dem umgebenden Gencluster *murein region A (mra)* ableitet, zu einer erhöhten Translocase I-(MraY)-Aktivität in der Membran führt.^[92] Boyle und Donachie, sowie andere Arbeitsgruppen, brachten durch die Inaktivierung des Gens *mraY* den Beweis, dass eine Verringerung der MraY-Konzentration den gegenteiligen Effekt und damit das Anschwellen und die spätere Lyse der Zelle bedeutete, woraufhin sie schlossen, dass dieses Gen ein für die Peptidoglycan-Biosynthese essentielles Protein kodieren muss.^[93–97] 2004 gelang es Bouhss und Mitarbeitern das Protein aus *B. subtilis* im Milligramm-Maßstab zu isolieren,^[98] eine zellfreie Methode zur Expression und Reinigung des Membranproteins Translocase I aus *B. subtilis* und *E. coli* wurde 2011 von Bernhard, Dötsch und Mitarbeitern entwickelt.^[99]

Nach Identifizierung des *mraY*-Gens ließ sich aus der Nucleotidsequenz auf die Reihenfolge der einzelnen Aminosäuren schließen. Daraus folgte eine hohe Hydrophobizität des Proteins, woraus abgeleitet wurde, dass es sich bei MraY um ein Membranprotein handeln musste.^[92] Diese These wurde durch die von Neuhaus und Mitarbeitern 1969 beobachtete Abhängigkeit der MraY-Aktivität von einer lipidischen Umgebung untermauert.^[100] Aus diesen Erkenntnissen wurde 1999 von van Heijenoort und Mitarbeitern ein zweidimensionales Topologiemodell entworfen, das für das MraY-Protein aus *E. coli* anhand der Primärstruktur erarbeitet wurde. Demzufolge existieren, basierend auf der alternierenden Abfolge von hydrophoben und hydrophilen Domänen, zehn transmembrane Segmente, fünf cytoplasmatische Loops und einschließlich des N- und C-Terminus sechs Domänen auf der Außenseite der Membran.^[101]

Auf dieser Grundlage wurde ein Modell des aktiven Zentrums von MraY aus *E. coli* von Bugg und Mitarbeitern entwickelt.^[102] Dabei wurden drei konservierte Aspartat-Reste (Asp115, Asp116 und Asp267) mit nucleophilen Seitenketten innerhalb der Superfamilie der Polyisoprenylphosphat-*N*-acetyl-hexosamin-1-phosphattransferase (PNPT) identifiziert. Bei Mutation dieser Aminosäuren ging die katalytische Aktivität verloren. Diese Beobachtung führte zu der These, dass Asp115 und Asp116 sowie das UDP-MurNAc-pentapeptid von Magnesium (Mg^{2+}) als Cofaktor gebunden werden und dass Asp267 dabei als Nucleophil dient. Aufgrund dieser Befunde wurde ein zweistufiger Mechanismus der katalysierten Reaktion nahegelegt, was bereits in den 1960er Jahren von Heydanek, Neuhaus und Mitarbeitern postuliert worden war (Abb. 2.6).^[100] Diese These stützten sie auf zahlreiche Experimente mithilfe von Isotopenmarkierungen und kinetischen Untersuchungen. Der

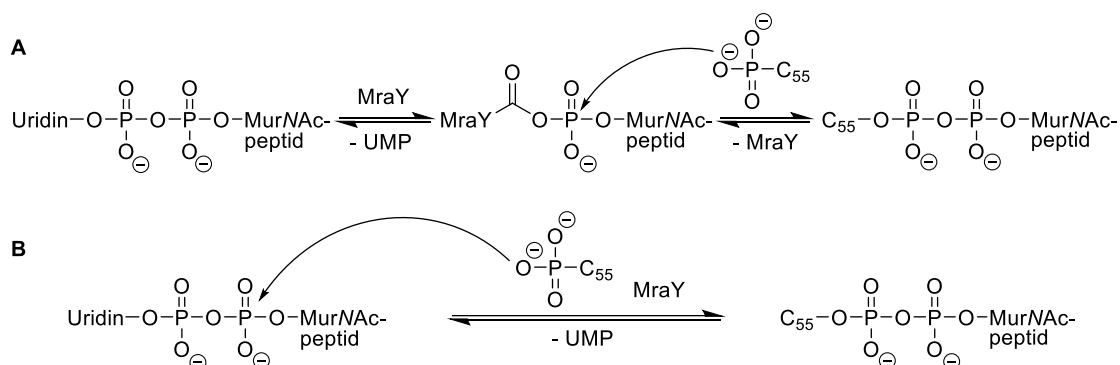


Abb. 2.6 Zweistufiger Mechanismus nach Heydanek et al. (A)^[100] und einstufiger Mechanismus nach Bouhss et al. (B).^[103] (nach: S. Koppermann, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.^[79]).

Mechanismus sollte basierend auf diesem phänomenologischen Befund über ein MraY-Phospho-MurN-Ac-pentapeptid-Intermediat als Zwischenstufe verlaufen (Abb. 2.6, A). Durch die Nutzung verunreinigter MraY-Präparationen aufgrund fehlender Methodik zur Isolierung und Reinigung dieses Proteins in der damaligen Zeit, konnte jedoch eine Verfälschung der Messdaten nicht ausgeschlossen werden. 2008 kam es zu einer Revision des Mechanismus von Bouhss und Mitarbeitern, die noch Restaktivität in einer Asp231N-Mutante mit gereinigtem MraY aus *B. subtilis* (korrespondierend zu Asp267 aus *E. coli*) feststellen konnten.^[103] Sie stufen dies als Widerspruch zum postulierten zweistufigen Mechanismus ein, da für diesen eine nucleophiler Rest unabdingbar ist und postulierten einen einstufigen Mechanismus (Abb. 2.6, B) mit direktem nucleophilen Angriff des deprotonierten Undecaprenylphosphats auf das UDP-MurN-Ac-pentapeptid unter Abspaltung des Uridylat-Restes (UMP).

2013 wurde schließlich die erste Röntgen-Kristallstruktur als Dimer (Auflösung 3.3 Å) des schwer zu kristallisierenden Transmembranproteins MraY aus *Aquifex aeolicus* als erste Verbindung aus der PNPT-Superfamilie von Lee und Mitarbeitern veröffentlicht.^[104] Diese Ligand-freie Struktur bestätigte die zuvor gemachten Überlegungen zum generellen Aufbau des Membranproteins und zum aktiven Zentrum. Die Postulierung des zweistufigen Mechanismus (Abb. 2.6, A) der durch MraY katalysierten Reaktion wurde durch Lage und Bindungsart des Mg²⁺-Cofaktors nicht unterstützt. Zum einstufigen Mechanismus (Abb. 2.6, B) konnte zumindest kein Widerspruch gefunden werden.^[102]

Von derselben Arbeitsgruppe konnte 2016 ein Cokristall von MraY mit Muraymycin D2, einem Inhibitor aus der Reihe der Nucleosid-Antibiotika, erhalten und röntgenkristallographisch untersucht werden.^[105] Dabei kristallisierte der MraY-MD2-Komplex als Dimer genau wie das Enzym ohne Ligand. Aus dieser Arbeit konnten verblüffende neue Erkenntnisse gezogen werden. So befindet sich das aktive Zentrum von

MraY aus *Aquifex aeolicus* auf der cytosolischen Seite der Zellmembran, wobei keiner der drei für die katalytische Aktivität als wichtig identifizierten Aspartat-Reste mit dem Muraymycin D2 interagiert. Vielmehr durchläuft das Protein durch die Ligandenbindung eine erhebliche Konformationsänderung, bei der einzelne Reste, vor allem die Uracil-bindenden Gruppen, große Distanzen zwischen 5 und 17 Å zurücklegen. Dabei entsteht eine offene Struktur, die es ermöglicht den Peptidteil des Inhibitors zu binden (Abb. 2.7, A).^[106]

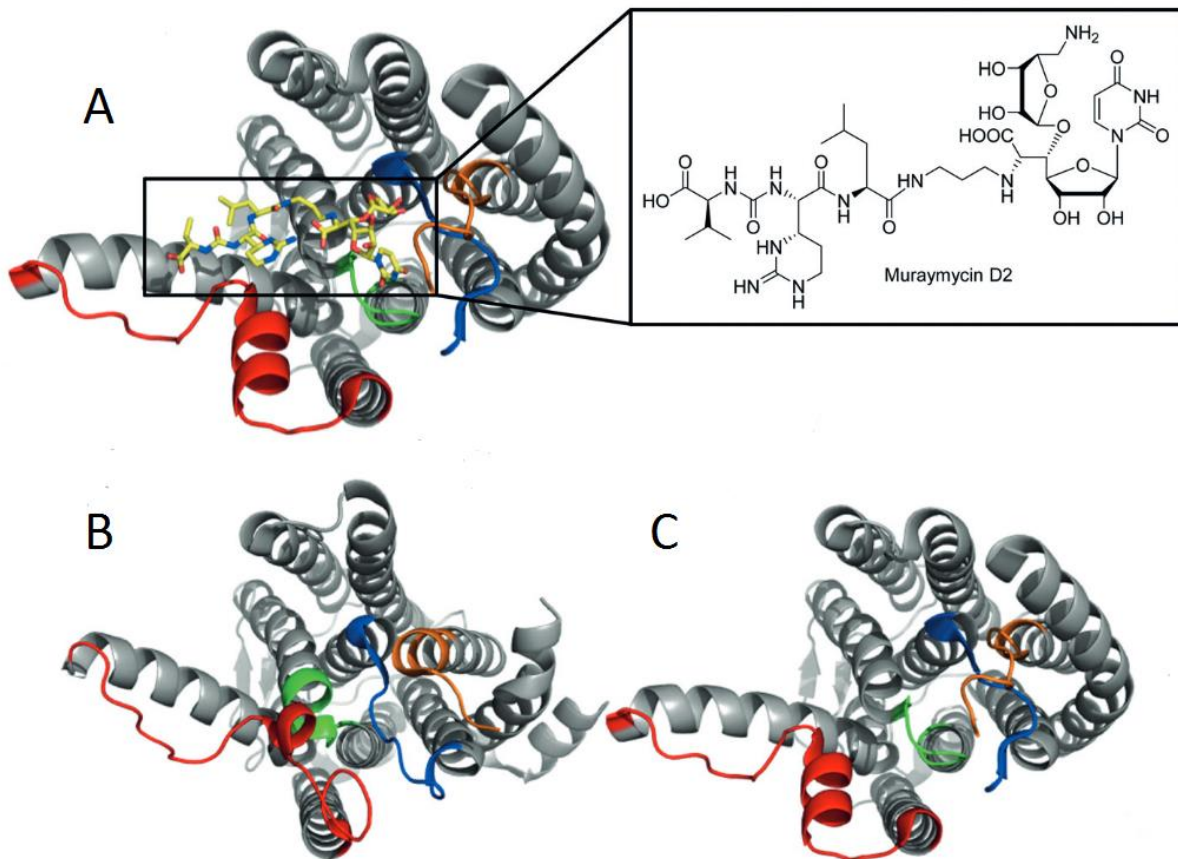


Abb. 2.7 A) Cokristall von MraY mit Muraymycin D2 (gelb),^[105] B) Röntgen-Kristallstruktur des Ligand-freien Apoproteins,^[104] C) Cokristall ohne Ligand (alle Ansichten von der cytosolischen Seite aus) (nach: Koppermann und Ducho, *Angew. Chem.* **2016**, 128, 11896-11898.^[106]).

Zusammenfassend werden sich diese Erkenntnisse als äußerst wichtig für die Forschung an diesem membranständigen Enzym und seinen natürlichen Inhibitoren darstellen. Die Erkenntnisse zur konformativen Plastizität von MraY sowie zu den molekularen Details der Wechselwirkung mit Muraymycin D2 werden das Design neuer MraY-Inhibitoren in Zukunft vereinfachen, was zu dem Schluss führt, dass die Entwicklung neuer potentieller Wirkstoffkandidaten in hohem Maße von dieser Arbeit profitieren wird.^[106] Das Modelling in Docking-Experimenten wird jedoch auch in Zukunft für dieses membranständige Protein schwierig bleiben, da die relativ großen Ligand-Moleküle viele Bewegungs-Freiheitsgrade besitzen und das Enzym, wie beschrieben, sehr flexibel ist. Der große Unterschied in der

Konformation der beiden Kristallstrukturen von MraY mit und ohne Ligand (Abb. 2.7, B und C)^[106] verdeutlicht dies noch einmal.

Die Untersuchung von potentiellen Inhibitoren auf ihre antibiotische Potenz lässt sich mithilfe diverser MraY-Assays durchführen. Ein weit verbreitetes Verfahren ist dabei die Bestimmung der Minimalen Inhibitorischen Konzentration (MIC), die als Basis für Struktur-Aktivitäts-Beziehungs-Studien (SAR) dient. Der MIC-Wert ist als geringste Konzentration, bei welcher der Wirkstoff das sichtbare Wachstum von Mikroorganismen hemmt, definiert.^[107] Er ist relativ leicht zu bestimmen und liefert dabei indirekt Informationen über die Wechselwirkung mit dem Target und die Zellgängigkeit.

Da dieses Verfahren jedoch nicht direkt die inhibitorische Potenz des Wirkstoffes gegenüber dem Target-Protein MraY als solches widerspiegelt, sind drei verschiedene *in vitro*-Assays verfügbar um die inhibitorische Aktivität zu bestimmen. Der erste, ein Fluoreszenz-basierter Assay, wurde von Bugg und Mitarbeitern entwickelt^[68,69] und nutzt ein Fluoreszenz-markiertes Substrat-Analogon des UDP-MurNAc-pentapeptids, das sogenannte dansylierte Park-Nucleotid, welches von Ducho und Mitarbeitern synthetisch dargestellt werden konnte.^[108] Ein weiterer, von Bouhss und Mitarbeitern etablierter, Assay nutzt radioaktiv markiertes UDP-MurNAc-pentapeptid und dünnschichtchromatographische Trennung von Undecaprenyl-verlinktem UDP-MurNAc-pentapeptid und unreaktiertem Substrat.^[98] Ein dritter relativ neuer Assay basiert auf Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) und wurde 2012 von Shapiro und Mitarbeitern eingeführt.^[109] Dabei wird ein FRET-Donor mit dem UDP-MurNAc-pentapeptid verknüpft und ein FRET-Akzeptor in einer Detergenz-Micelle, die auch MraY beinhaltet, eingesetzt.

2.5 Muraymycine

2.5.1 Natürlich vorkommende Muraymycine

Muraymycine (Abb. 2.8) wurden erstmals 2002 von McDonald und Mitarbeitern aus einem Stamm einer *Streptomyces sp.* isoliert und gehören zur Klasse der Nucleosid-Lipopeptid-Antibiotika.^[65,110] Mithilfe NMR-spektroskopischer und massenspektrometrischer Methoden konnten 19 Verbindungen identifiziert und charakterisiert und auf Basis ihres strukturellen Aufbaus in vier Gruppen A-D unterteilt werden. Durch die chemische Überführung einiger Derivate ineinander wurde sowohl die strukturelle Verwandtschaft als auch die Identität der einzelnen Vertreter eindeutig belegt. Wie bereits beschrieben repräsentiert das Nucleosid

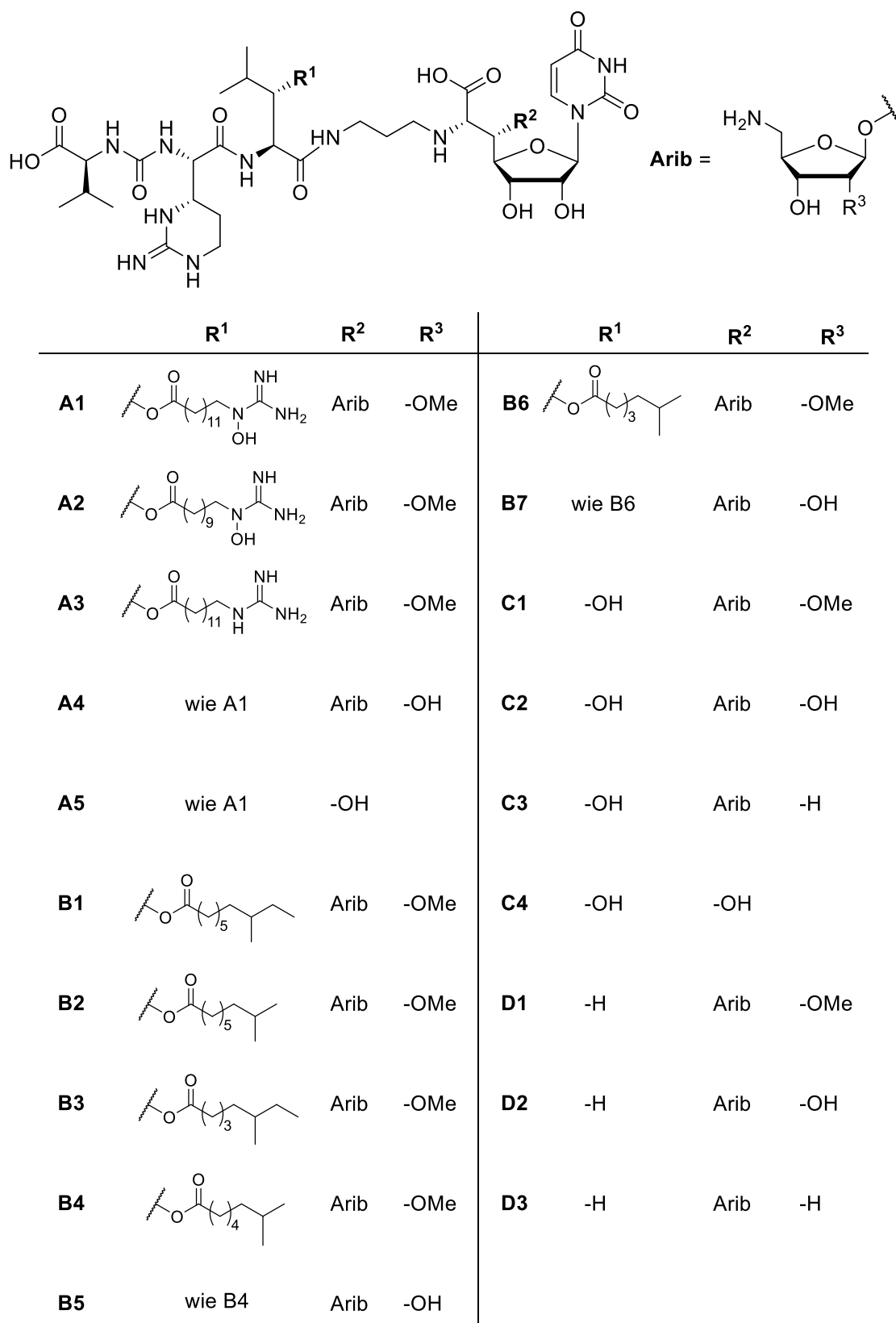


Abb. 2.8 Die natürlich vorkommenden Muraymycine

(nach: G. Niro, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.^[79]).

Uridin in Form eines (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure-Motives den Kernbaustein aller Muraymycine, der außer bei den zwei Vertretern A5 und C4 O-glycosidisch über die 5'-Hydroxy-Funktion mit einer Aminoribose-Gruppe verknüpft ist (Abb. 2.8, Arib).

Des Weiteren ist die (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure-Einheit am 6'-Stickstoffatom über einen Propylamin-Linker mit drei weiteren Aminosäuren verknüpft. Dabei beginnt diese Peptidkette in den ersten drei Gruppen A-C mit (3S)-3-Hydroxy-L-leucin und in der D-Gruppe mit L-Leucin. Die sekundäre Alkohol-Funktion des Hydroxyleucin-Restes ist zudem in der Gruppe A mit einer guanidinylierten oder N-Hydroxy-guanidinylierten Fettsäure und in der Gruppe B mit einer verzweigten Alkyl-Fettsäure verestert (Abb. 2.8).^[65,110] Die zwei weiteren Aminosäuren der Peptidkette, die nicht-proteinogene Aminosäure L-Epicapreomycinidin und die proteinogene Aminosäure L-Valin, sind über ein Harnstoff-Motiv miteinander verknüpft, wodurch sich die effektive Richtung der Peptidkette umkehrt.

Die durch das Enzym MraY katalysierte Transfer-Reaktion (vgl. Kapitel 2.4) wird durch die Muraymycine effizient inhibiert, was durch Messungen der Minimalen Inhibitorischen Konzentrationen (MIC) unter Verwendung verschiedener Gram-positiver und Gram-negativer Bakterienstämme sowie mithilfe von Peptidoglycan-Bildungs-Assays bewiesen werden konnte.^[65,110]

Muraymycin A1 ist einer der antibiotisch aktivsten Vertreter dieser Klasse und weist hauptsächlich Aktivität gegen Gram-positive Bakterien (*Staphylococcus* MIC: 2-16 µg/mL, *Enterococcus* MIC: 16-64 µg/mL) sowie gegen wenige Gram-negative Bakterien (*E. coli* MIC: 0.003 µg/mL, Wildtyp *E. coli* MIC > 128 µg/mL)^[65,110] auf. Das Muraymycin A5 ohne Aminoribose-Einheit ist ebenfalls noch sehr aktiv (*Staphylococcus* MIC: 8 µg/mL). Dagegen sind die Muraymycine C4 und D2 beispielsweise weitgehend inaktiv (*Staphylococcus* MIC: > 32 µg/mL), was am Fehlen der lipophilen Fettsäure-Ketten liegen könnte. Ob damit eine schlechtere Zellgängigkeit einhergeht oder ob ein aktiver Transport, sowie Efflux und Abbau, eine Rolle spielen konnte bisher noch nicht geklärt werden. Zuletzt konnte 2016 interessanterweise eine antibakterielle Aktivität von Muraymycin D1 gegen *M. tuberculosis* (MIC: 1.56 µg/mL) festgestellt werden.^[111]

In die Biosynthese von Muraymycinen gibt es bisher nur begrenzte Einblicke. Der biosynthetische Gencluster wurde 2011 von Chen, Deng und Mitarbeitern identifiziert.^[112] Basierend darauf wurde ein möglicher Reaktionsweg der Biosynthese postuliert, an dessen Ende Muraymycin C2 als spekulatives Intermediat hin zu weiteren Muraymycinen der A- und der B-Reihe steht. Auch für die Bildung des Harnstofftripeptids wurde die Biosynthese vorhergesagt.^[79,112] Der exakte stereochemische Verlauf der Epicapreomycinidin-Bildung bleibt jedoch weiter unklar. Es konnten aber bereits Syntheserouten von Epimeren des 3-Hydroxy-L-arginins etabliert werden, die auch Isotopen-Markierungen für weitere biosynthetische Studien erlauben.^[113,114] Die Biosynthese eines durch die aminoribosylierte Nucleosid-

Struktur verwandten A-90289 Nucleosid-Antibiotikums wurde von Van Lanen und Mitarbeitern eingehend untersucht.^[115] Diese Arbeiten legen nahe, dass die Biosynthesen in diesen Unterklassen möglicherweise sehr ähnlich sind. Es konnten jedoch auch Unterschiede zu Chens und Dengs Modell gezeigt werden.^[116]

2.5.2 Semisynthetische Muraymycin-Analoga

Um dezidierte Einblicke in die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Muraymycine zu erlangen, wurden von einer Gruppe von Wissenschaftlern von Wyeth 16 semisynthetische Analoga ausgehend vom natürlich vorkommenden Muraymycin C1 dargestellt.^[117] Hierbei wurde in erster Linie das Augenmerk auf Derivatisierungen des primären Amins der Aminoribose-Einheit und des sekundären Amins in 6'-Position der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure-Einheit gelegt, wobei Isocyanate und Aldehyde mit diesen Stickstoffatomen verknüpft wurden. Dabei führte eine Modifikation des Aminozyckers zu einem vollständigen Verlust der antibiotischen Aktivität. Ein partieller Erhalt der biologischen Aktivität korrelierte mit der Lipophilie der an das sekundäre Amin gebundenen Reste. Eine signifikante Verbesserung der antibiotischen Potenz der semisynthetischen Analoga im Vergleich zu den Naturstoffen konnte jedoch nicht beobachtet werden.^[117]

2.5.3 Synthetische Muraymycin-Analoga

Zur gleichen Zeit leisteten Yamashita und Mitarbeiter 2003 erste Arbeiten zu vereinfachten vollständig synthetischen Muraymycin-Analoga.^[118,119] Beginnend mit Uridin **1** wurde der PMB-geschützte Uridin-5'-Aldehyd **2** über vier Stufen generiert.^[120,121] Dieser wurde in einer Aldolreaktion mit dem Enolat des *N,N*-Dibenzyl-glycin-*tert*-butylesters **3**^[122] als Schlüsselschritt umgesetzt (Abb. 2.9). Die beiden entstandenen Epimere **4** und **5** konnten säulenchromatographisch getrennt und hydrogenolytisch Benzyl-entschützt werden. Die primären Amine wurden in reduktiven Aminierungen mit Amino-Aldehyden **6** umgesetzt, wobei R eine Hydroxy-Gruppe oder ein Proton und R' Alkyl-, Allyl-, Ester- oder geschützte Aminosäure-Reste darstellten (ohne Abbildung). Mit den Verbindungen des Typs **7** und **8** resultierten dabei verschiedene verkürzte Muraymycin-Analoga. Cbz-Entschützung und anschließende Peptidkupplung mit dem L-Arginin-, L-Valin-abgeleiteten Harnstoffdipeptid **9** ergaben eine Reihe von Muraymycin-Analoga des Typs **10** und **11** in vollständiger Länge. Sich an die Synthese anschließende Tests bezüglich der biologischen Aktivität zeigten, dass

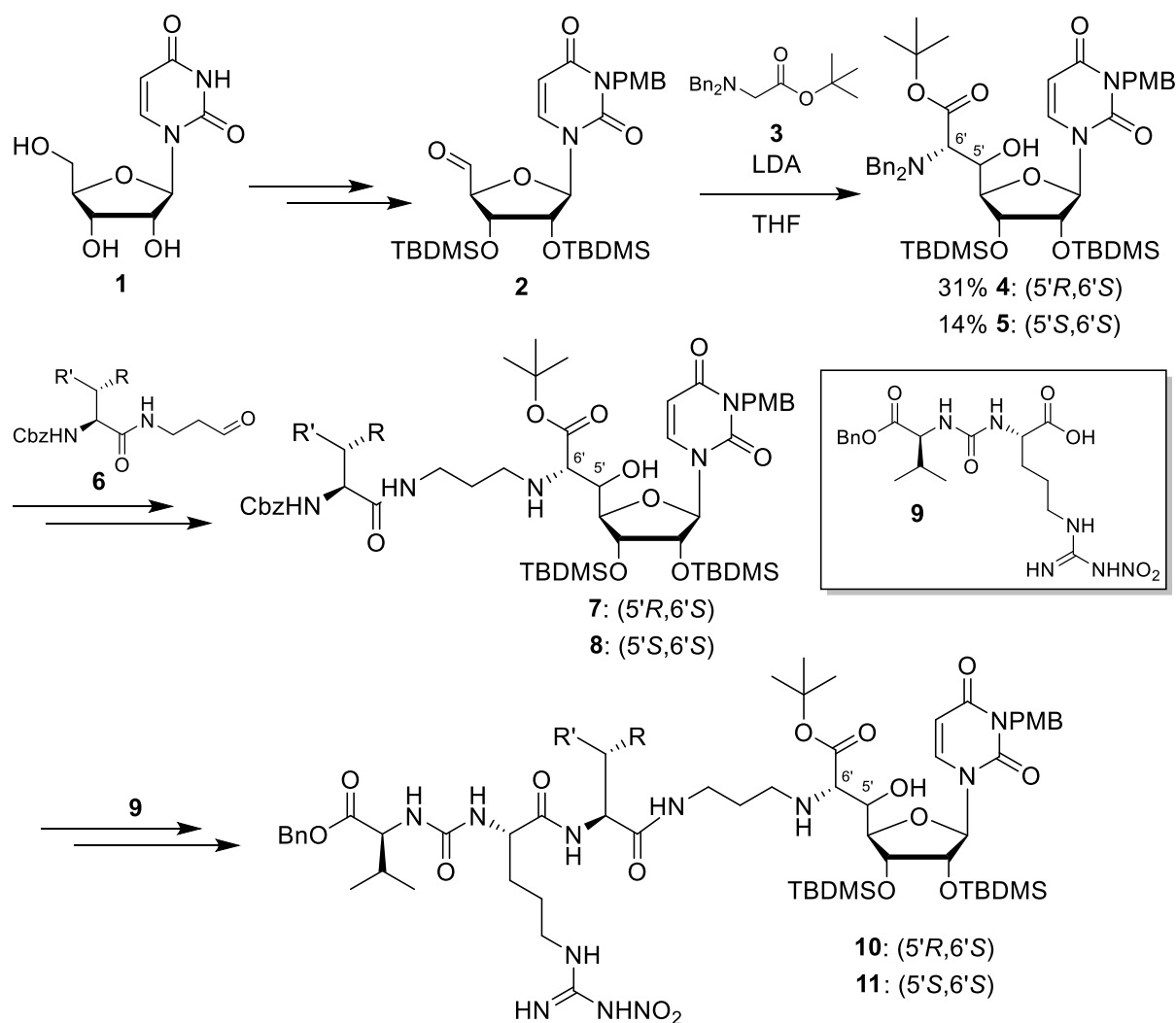


Abb. 2.9 Erste Synthese vereinfachter Muraymycin-Analoga von Yamashita und Mitarbeitern.^[118,119]
(nach: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.^[79]).

vollständig geschützte sowie vollständig entschützte Analoga inaktiv waren. Verbindungen mit intaktem *tert*-Butylester und TBDMS-Ethern zeigten signifikant bessere biologische Aktivitäten. In fast allen Fällen wiesen die 5'-epimeren Analoga eine deutlich höhere antibiotische Potenz auf als die entsprechenden Derivate mit der nativen (5'S,6'S)-Konfiguration. Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass auch stark vereinfachte Muraymycin-Analoga substanzielles Potential für die Entwicklung neuer Antibiotika besitzen.^[118,119]

Nachdem Ichikawa, Matsuda und Mitarbeiter 2005 die Synthese von (+)-Caprazol berichteten,^[123–125] welches dieselbe Uridin-abgeleitete Grundstruktur wie die Muraymycine besitzt (ohne Abbildung), stellten sie darauf aufbauend im Jahre 2010 auch das erste totalsynthetische Muraymycin, das Muraymycin D2 dar.^[126,127]

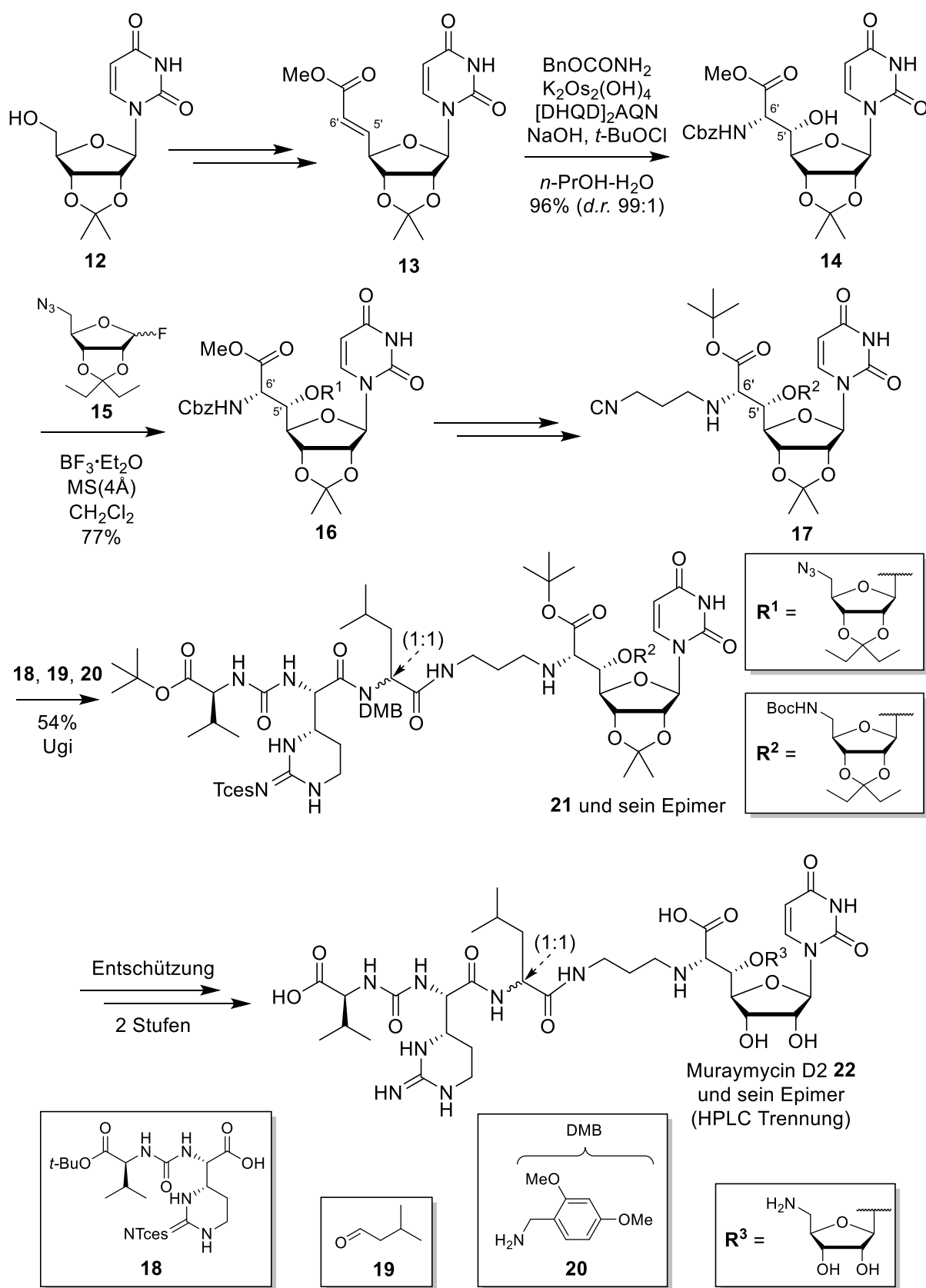


Abb. 2.10 Synthese von Muraymycin D2 **22** von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern.^[126,127]
 (nach: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.^[79]).

In diesem Zuge wurde zunächst Isopropyliden-geschütztes Uridin **12** oxidiert und der resultierende Aldehyd mit einem stabilisierten Phosphor-Ylid in einer Wittig-Reaktion^[128] zum Olefin **13** umgesetzt. Der folgende Schlüsselschritt, eine asymmetrische Aminohydroxylierung nach Sharpless,^[129] wurde zum diastereoselektiven Aufbau der stereogenen Zentren verwendet (Abb. 2.10), wobei die (5'S,6'S)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **14** resultierte.^[125,130] Eine neu entwickelte β -selektive Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion mit einem Fluorid-Donor **15**,^[124,124] gefolgt von einer Umschüttung und einer reduktiven Aminierung zum Isonitril **17**, führte zum ersten von vier Bausteinen für eine Ugi-Vier-Komponenten-Reaktion, in der Muraymycin D2 aufgebaut werden sollte.

Die Carbonsäure **18**, durch welche die nicht-proteinogene Aminosäure Epicapreomycinidin in einem Harnstoffdipeptid eingeführt wurde, konnte zuvor in einer neuen Route von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern über eine C-H-Aktivierung als Schlüsselschritt dargestellt werden (ohne Abbildung).^[126,127] Die Umsetzung dieser beiden Bausteine mit dem Aldehyd **19** und dem Amin **20** in besagter Ugi-Reaktion lieferte ein Epimerengemisch **21** (1:1), welches aber nach abschließender Entschüttung mittels HPLC getrennt wurde und auf diese Weise sowohl Muraymycin D2 **22** als auch das entsprechende Epimer lieferte (Abb. 2.10).^[126,127]

Kurosu und Mitarbeiter berichteten 2012 die Synthese eines weiteren potentiellen Schlüsselintermediats für die Totalsynthese von Muraymycinen.^[131] Dabei wurde ein vollständig geschütztes Ureidomuraymycinidin-Tripeptid **23** generiert (ohne Abbildung). 2016 gelang Kurosu und Mitarbeitern schließlich die totalsynthetische Darstellung von Muraymycin D1 **30** (Abb. 2.11) und dessen Amid-Analoga **31** und **32**, in der beschriebenes Ureidomuraymycinidin **23** als einer von zwei Bausteinen in Kurosus stereoselektiver Synthese fungierte.^[111] Dabei konnte neben einer Aktivität gegenüber dem Target Mray auch eine signifikante antibiotische Wirkung gegenüber dem *Mycobacterium tuberculosis* beobachtet werden. Als Nucleobasen-Schutzgruppe wurde in dieser Synthese das eigens entwickelte Monomethoxytetrachlordiphenylmethoxymethyl (MTPM) als mild sauer spaltbare Schutzgruppe gewählt und somit von Isopropyliden-geschütztem Uridin **24** ausgegangen. Dieses wurde in einer modifizierten Swern-Oxidation mit dem entsprechenden Aldehyd und einer anschließenden asymmetrischen Alkinylierung in sehr guter Diastereoselektivität zum Glycosyl-Akzeptor **25** umgesetzt. Eine β -selektive Glycosylierung über das zuvor generierte Thioglycosid **26** unter NIS-AgBF₄-Aktivierung resultierte im aminoribosylierten Nucleosid **27** (Abb. 2.11). Azid-Reduktion mit Zink und Boc-Schüttung des Ribosyl-Restes gefolgt von einer dreistufigen Sequenz aus Reduktion mit Lindlars Katalysator, Bishydroxylierung und oxidativer Spaltung mittels Bleiacetat ergaben den entsprechenden Uridin-Aldehyd, der in

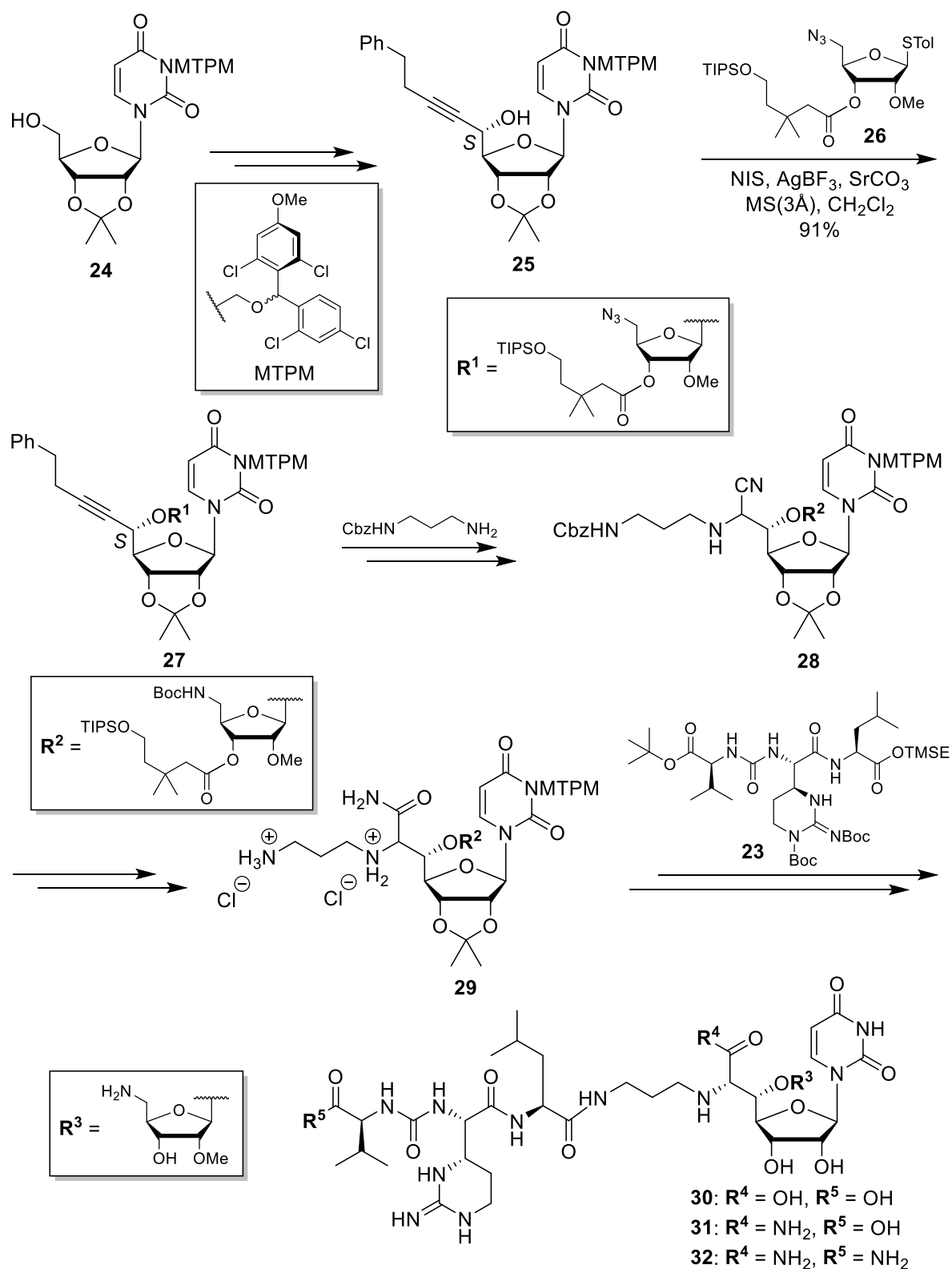


Abb. 2.11 Synthese von Muraymycin D1 **30** und seinen Amid-Analoga **31** und **32** von Kurosu und Mitarbeitern.^[111]

einer Thioharnstoff-katalysierten Strecker-Reaktion mit Cbz-geschütztem 1,3-Aminopropan zum Nitril **28** umgesetzt wurde. Die Nitril-Gruppe wurde oxymercuriert und nach Abspaltung der Schutzgruppen der zweite Baustein **29** der stereoselektiven Darstellung von Muraymycin D1 erhalten.^[111] Peptidkupplung mit dem Ureidomuraymycin **23** und abschließende saure

Entschützung resultierten schließlich im anvisierten Muraymycin D1 **30** und dem Mono-Amid **31**. Das Amid-Analogon **32** konnte mit einem Überschuss an Ammoniumchlorid unter Peptidkuppelungsbedingungen mit EDCI und Natriumhydrogencarbonat dargestellt werden (Abb. 2.11).^[111]

2010 veröffentlichten Ducho und Mitarbeiter eine alternative Route zur Darstellung einer natürlich vorkommenden Uridin-abgeleiteten Muraymycin-Kernstruktur, namentlich der (5'*S*,6'*S*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **33** (Abb. 2.12).^[132,133] Der Schlüsselschritt in dieser Synthese war eine Schwefel-Ylid-Reaktion^[134,135] zur Substrat-kontrollierten diastereoselektiven Darstellung eines *trans*-Epoxids **34** ohne Zuhilfenahme von chiralen Hilfsreagenzien aus dem Uridin-5'-Aldehyd **35** und einem *in situ* aus einem Sulfonium-Salz **36** generierten Schwefel-Ylid, die ursprünglich von Sarabia und Mitarbeitern entwickelt worden war.^[136,137] Anfänglich postulierten Sarabia und Mitarbeiter eine (5'*S*,6'*R*)-stereochemische Konfiguration des Epoxids, wobei sie ihre Annahmen auf theoretische Berechnungen, die eine konformationelle Bevorzugung eines *re*-Seiten-Angriffs mit resultierender (5'*S*)-Konfiguration postulierten, sowie auf den stereochemischen Verlauf der Schwefel-Ylid-Reaktion, den sie mit dem einer Sharpless-Epoxidierung verglichen, stützten. Mit der röntgenkristallographischen Untersuchung eines geeigneten Epoxid-Öffnungsproduktes konnten Ducho und Mitarbeiter 2010 eindeutig Sarabias Zuordnung widerlegen. Bei dem gebildeten Epoxid handelte es sich um das (5'*R*,6'*S*)-Diastereomer **34** und nicht um das (5'*S*,6'*R*)-Diastereomer (Abb. 2.12).^[133]

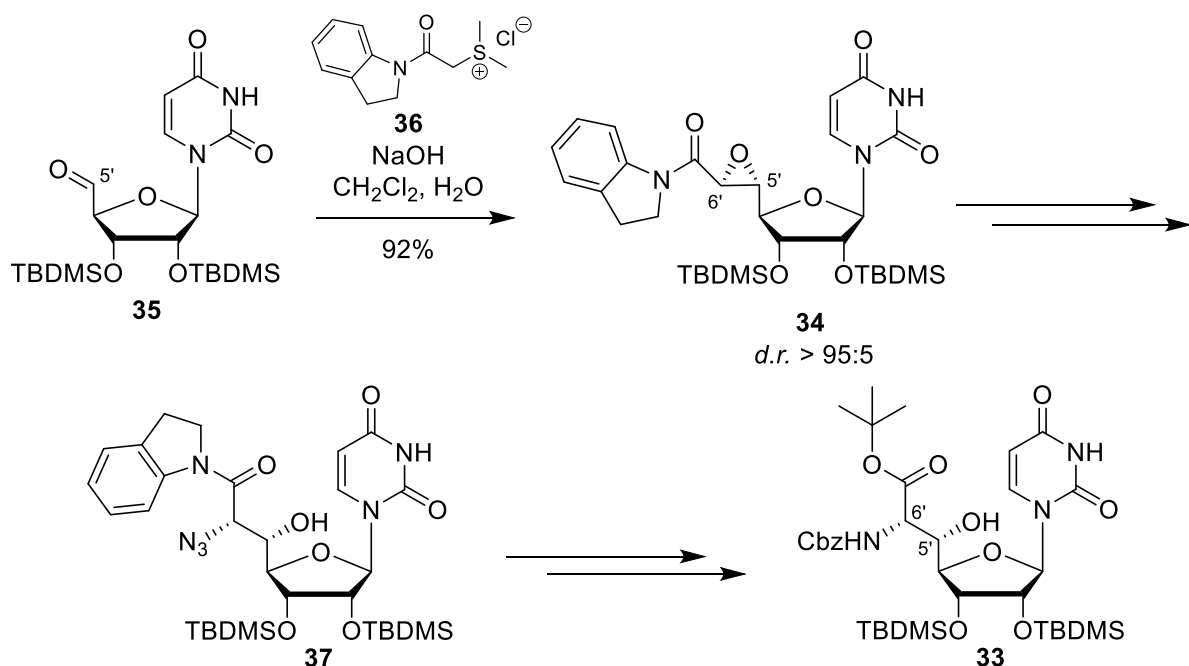


Abb. 2.12 Synthese der (5'*S*,6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure **33** von Ducho und Mitarbeitern.^[132,133]

Das Epoxid **34** konnte in den folgenden Schritten regioselektiv mit Tetrabutylammoniumbromid geöffnet und das Stereozentrum anschließend in 6'-Position erfolgreich nach transientscher Schützungs der 5'-Hydroxy-Funktion mit Lävulinsäure in einer S_N-Reaktion mit Natriumazid invertiert werden. Das resultierende Indolin-Amid **37** mit naturstoffanaloger (5'S,6'S)-Konfiguration wurde daraufhin zum entsprechenden Indol-Amid mithilfe von DDQ oxidiert. Die anschließende Umschützungs auf den *tert*-Butylester gelang nach Verseifung mit Lithiumhydroxid und anschließender *tert*-Butylester-Schützungs mit *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat. Abschließende hydrogenolytische Azid-Reduktion mit folgender *N*-Cbz-Schützungs ergab die (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **33** (Abb. 2.12).^[132,133] Basierend auf dieser Arbeit konnten in der Arbeitsgruppe Ducho in den Folgejahren auch weitere 5'- und 6'-*epi*-Analoga dieser Nucleosyl-Aminosäure **33** generiert werden (ohne Abbildung).^[138]

In der Arbeitsgruppe Ducho wurden auch bis dahin unbekannte und nicht natürliche 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga synthetisiert. Der Grund für diesen Ansatz war, dass der 5'-Aminoribose-Rest nicht essentiell für die biologische Aktivität der natürlich vorkommenden Muraymycine zu sein schien, da die Aktivitäten gegen das Gram-positive Bakterium *S. aureus* beispielsweise von Muraymycin A1 und A5 ähnlich gut waren.^[65,110] Ein weiterer Grund war, dass mit dem von Ducho und Mitarbeitern entwickelten Ansatz eine wesentlich leichtere synthetische Zugänglichkeit der 5'-Desoxy-Analoga einherging. Ferner wurde von Yamashita und Mitarbeitern beobachtet, dass die 5'-epimeren vereinfachten Analoga im Vergleich zu den entsprechenden Derivaten mit der naturstoffanaloge Konfiguration deutlich aktiver waren.^[118,119] Vor diesem Hintergrund sollten Struktur-Aktivitäts-Beziehungs-Studien (SAR-Studien) sowohl der (6'S)- als auch der (6'R)-konfigurierten 5'-Desoxy-Epimere Aufschluss über die Notwendigkeit der 5'-Hydroxy-Gruppe und den Einfluss der Konfiguration in 6'-Position geben. Da eine Nucleobasen-Schutzgruppe für die Synthese aufgrund basischer Reaktionsschritte unabdingbar schien, wurden zunächst die PMB-geschützten verkürzten epimeren 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga **38** und **39** dargestellt (Abb. 2.13).^[139] Diese wiesen jedoch wenig bis gar keine biologische Aktivität auf.

In der Folgezeit wurde herausgefunden, dass die Synthese auch in gleicher Weise ohne Nucleobasen-Schutzgruppe möglich war.^[140] Daher wurde von Ducho und Mitarbeitern ein dreiteiliger Ansatz^[79,132] zur stereoselektiven Darstellung von Muraymycin-Analoga entwickelt und dazu genutzt ein 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40** zu synthetisieren (Abb. 2.13).^[132] Für den zweiten und dritten Teil dieser stereoselektiven Synthese wurden dafür in der Arbeitsgruppe Ducho Strategien zur Darstellung eines L-Hydroxyleucin-

abgeleiteten Aldehyds **41**^[141] und eines Epicapreomycinid-haltigen Harnstoffdipeptids **42**^[132] entwickelt. Bei der Synthese des Aldehyds **41** wurde sich an einer Strategie von Zhu und Mitarbeitern ausgehend von D-Serin, orientiert, welches stereoselektiv in einen geschützten Aminoalkohol überführt wurde.^[142] Dieses Schlüsselintermediat wurde in den gewünschten Aldehyd **41** überführt (ohne Abbildung).^[141] Das Harnstoffdipeptid **42** wurde über den Garner-Aldehyd mit einer diastereoselektiven Grignard-Reaktion und unter Cyclisierung der

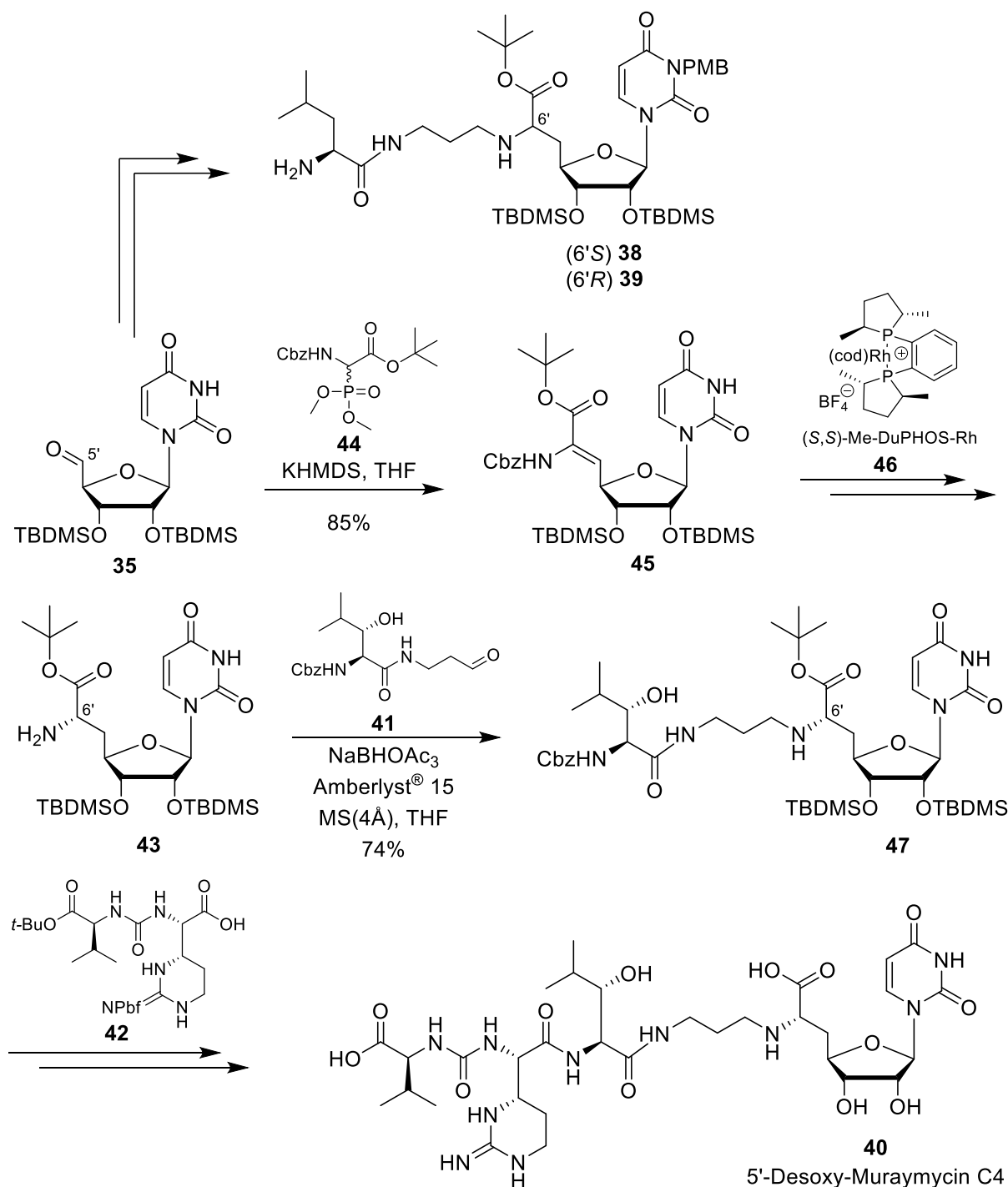


Abb. 2.13 Synthese von 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40** von Ducho und Mitarbeitern.^[132,141]

Guanidin-Funktion mit einem neuartigen Guanidinylierungsreagenz als Schlüsselschritte dargestellt (ohne Abbildung).^[132]

Für den noch fehlenden ersten Teil, die 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43**, des dreiteiligen Ansatzes der stereoselektiven Darstellung von 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40** stellte eine (Z)-selektive Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] ausgehend vom Uridin-5'-Aldehyd **35** mit dem Phosphonat **44**^[145–148] den ersten Schlüsselschritt dar (Abb. 2.12). Die resultierende Didehydroaminosäure **45** wurde in einer homogenen asymmetrischen Hydrierung^[149,150] mit dem chiralen Rhodium(I)-DuPHOS-Katalysator **46** und anschließender hydrogenolytischer Cbz-Entschützung in die (6'S)-konfigurierte 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** überführt.^[132,139] Mit dem Verlauf der Reaktion in einer Diastereoselektivität von > 98:2 fiel hier besonders auf, dass die Katalysatorkontrolle eine mögliche Substratkontrolle des chiralen nucleosidischen Substrates dominierte. Eine stereoselektive Darstellung hochkomplexer L- und auch D-Aminosäuren ausgehend von Carbamat-geschützten Z-konfigurierten Didehydro-Aminosäuren ist mit dieser Methode möglich.^[149,150] Die Verknüpfung dieses Bausteins **43** mit dem zweiten Teil, dem L-Hydroxyleucin-abgeleiteten Aldehyd **41**, erfolgte über eine reduktive Aminierung, woraufhin das Verknüpfungsprodukt **47** entschützt und mit dem Harnstoffdipeptid **42** als drittem Baustein gekuppelt wurde. Eine abschließende globale saure Entschützung resultierte schlussendlich im 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40** (Abb. 2.13).^[132]

In der biologischen Evaluierung des rein synthetischen 5'-Desoxy-Muraymycins C4 **40** konnte gezeigt werden, dass es eine inhibitorische Aktivität gegen MraY aus *S. aureus* ($IC_{50} = 95 \pm 19$ nM) ca. halb so gut wie die von Tunicamycin ($IC_{50} = 42 \pm 16$ nM) aufwies. Im Gegensatz zu dem von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern synthetisierten Muraymycin D2 **22**, konnte auch eine moderate antibakterielle Aktivität gegenüber *E. coli* DH5 α (MIC = 15 μ g/mL) festgestellt werden.^[132]

2.6 Das Prodrug-Konzept

Bekannte prominente Beispiele für die Anwendung des Prodrug-Konzeptes im antiviralen Bereich sind die Bis-Pivaloyloxymethyl-(POM)-Nucleotide,^[151–155] wie zum Beispiel das als anti-Hepatitis B Arzneistoff zugelassene Bis-POM-Prodrug des Adefovirs **48**, das Adefovirdipivoxil **49**. Als anti-HIV Arzneistoff existiert ein Bis-*iso*-Propyloxycarbonyloxymethyl-(POC)-Nucleotid,^[156] das Tenofovirdisoproxil **50**, ein Bis-POC-Prodrug des Tenofovirs **51**, welches als Tenofovirdisoproxilfumarat zugelassen ist. Bei diesen

sogenannten Pronucleotiden gilt es, zwei negativ geladene Sauerstoffatome als Phosphonsäureester zu maskieren. Es lässt sich festhalten, dass beide Systeme prinzipiell auf dem gleichen Spaltungsprinzip basieren, da sie eine Ester-Substruktur besitzen, die durch das intrazellulär vorkommende Enzym Carboxyesterase gespalten werden kann. Das verbleibende Fragment zerfällt in einem oder mehreren Folgeschritten unter Freisetzung der gewünschten Stammverbindung (Abb. 2.14).^[157]

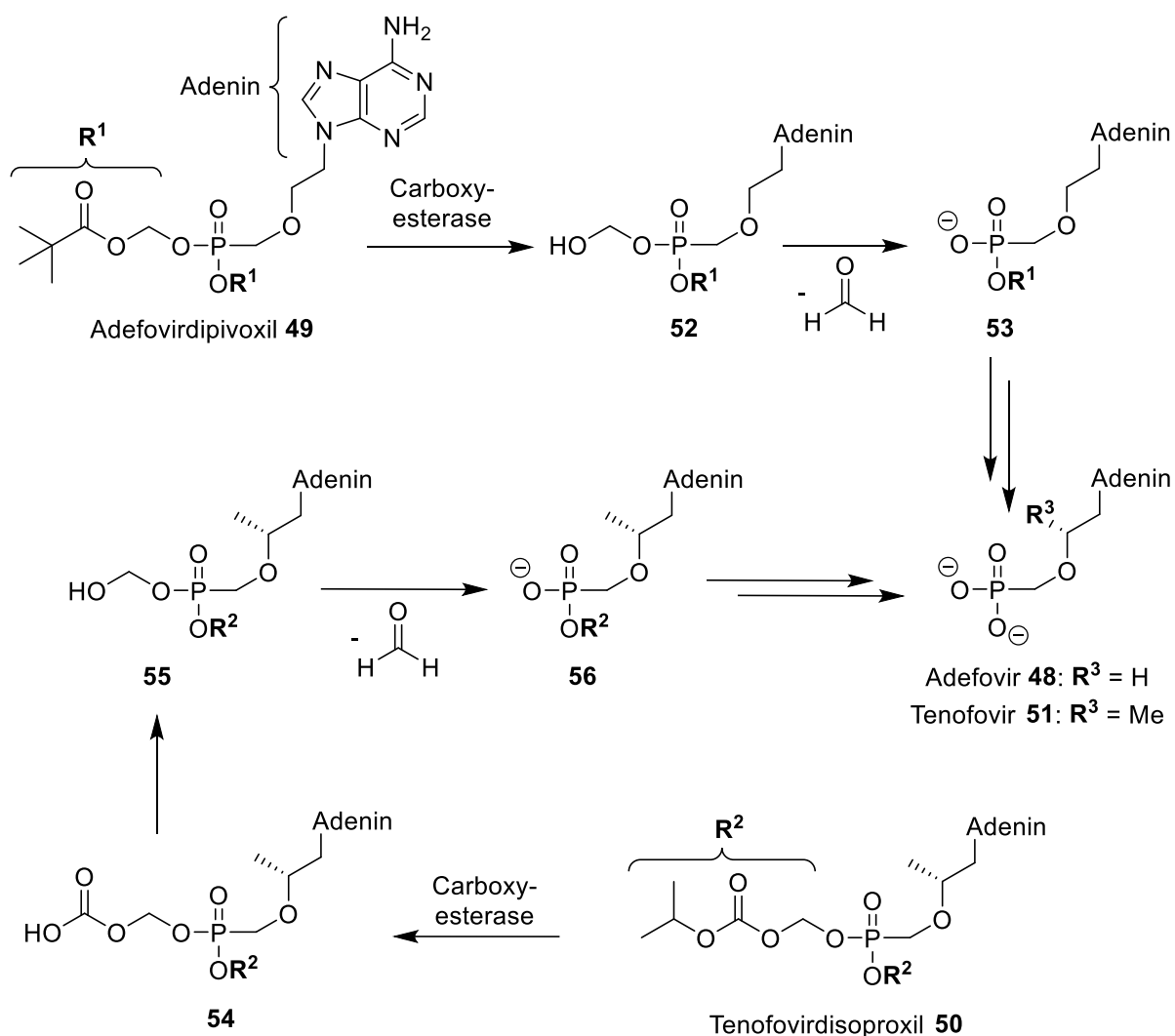


Abb. 2.14 Enzymatische Spaltungsmechanismen von Adefovirdipivoxil **49** und Tenofoviridisoproxil **50**.

Das Adefovirdipivoxil **49** liefert nach Spaltung der Ester-Funktion das instabile halbacetalische Intermediat **52**, welches unter Freisetzung von Formaldehyd zum Phosphonatediester **53** zerfällt. Die zweite POM-Modifikation (Rest R^1) wird analog gespalten, was in der Freisetzung der biologisch aktiven Stammverbindung Adefovir **48** resultiert. Für Tenofoviridisoproxil **50** liefert die Esterase-vermittelte Reaktion zunächst den Kohlensäurehalbester **54**, welcher spontan unter Freisetzung von Kohlenstoffdioxid zum ebenfalls instabilen Intermediat **55** zerfällt. Dieses Analogon der Verbindung **52** zerfällt

schließlich, erneut unter Abspaltung von Formaldehyd, zu einem Phosphonatdiester **56**, welcher ein Analogon von **53** darstellt. Abschließend resultiert auch hier nach Abspaltung der zweiten POC-Gruppe die Stammverbindung Tenofovir **51** (Abb. 2.14).

In der antibakteriellen Forschung gibt es aus der Reihe der Antibiotika ebenfalls einige Vertreter von Prodrugs mit Acyloxymethylstrukturen, beispielsweise aus der Reihe der β -Lactam-Antibiotika.^[158] Der Zusammenhang an dieser Stelle ist jedoch, dass auf diese Weise die Bioverfügbarkeit bei oraler Applikation durch eine erhöhte Lipophilie verbessert wird. Als günstiger Nebeneffekt geht mit dieser Maskierung der Substanzen auch eine verbesserte β -Lactamase-Stabilität einher. Die Esterase-vermittelte Hydrolyse unter Wirkstofffreisetzung erfolgt nach gastrointestinaler Absorption. Prominente Beispiele sind das POM-Prodrug Cefditorenpivoxil **57** und das POC-analoge Prodrug Cefpodoximproxetil **58** (Abb. 2.15).

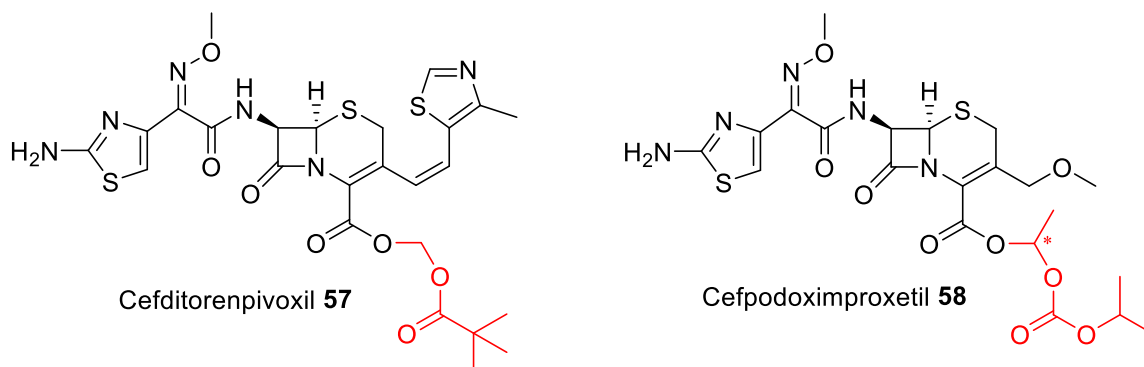


Abb. 2.15 Prominente Beispiele für Prodrugs der β -Lactam-Antibiotika.

Eine ganz andere Möglichkeit in der Antibiotika-Forschung im Kontrast dazu wäre ein Prodrug-Ansatz zur Verbesserung der Zellgängigkeit von Antibiotika, ähnlich wie im Bereich der antiviralen Prodrugs. Um die bakterielle Zellmembran zu überwinden könnten bei solchen Prodrug-Konzepten polare Säure- und Amino-Funktionen mit lipophilen Maskierungsgruppen, wie beispielsweise Estern und Carbamaten, versehen werden. Diese Gruppen werden nach Eintritt in die Bakterienzellen von Enzymen wie zum Beispiel Esterasen gespalten und die biologisch aktiven Stammverbindungen auf diese Weise freigesetzt. Als Säure-Maskierungsgruppen wären wie beim antiviralen Ansatz Pivaloyloxymethyl-(POM)- oder *iso*-Propyloxycarbonyloxymethyl-(POC)-ester möglich.^[159] Für primäre Amino-Funktionen wären verschiedene Methoden wie Amide und Carbamate oder alternative Methoden wie Lacton- oder Redox-Systeme denkbar.^[160]

Ein solcher Ansatz wäre vor dem Hintergrund der Inhibierung der frühen intrazellulären Reaktionsschritte der Peptidoglycan-Biosynthese (vgl. Kapitel 2.3) äußerst interessant, da die

Wirkstoffe in die Bakterienzelle hinein gelangen müssen. Dennoch gibt es für einen solchen Ansatz bisher noch keine etablierten Beispiele.

2.7 Ribosylierungs-Reaktionen

Wie beschrieben unterscheiden sich die ähnlich antibakteriell aktiven Muraymycine A1 und A5 nur durch eine Aminoribose in 5'-Position (vgl. Kapitel 2.5.1). Die Einführung einer solchen Funktion sollte sich mithilfe einer geeigneten Glycosylierungsmethode durchführen lassen. Aus einem großen Repertoire solcher Methoden und Reaktionen stellt der Bereich der Ribosylierungen einen vergleichsweise kleinen Teil dar. Auf eine Auswahl für die Einführung einer Aminoribose in 5'-Position möglicherweise relevanter Methoden wird im Folgenden eingegangen. Pentosen fanden in Glycosylierungen mit Thioglycosiden und Pentenylglycosiden bisher kaum Entsprechungen, weshalb an dieser Stelle literaturbekannte Beispiele mit einer Octose (Thioglycoside) und einer Hexose (Pentenylglycoside) dargestellt wurden.

Eine effektive Synthesestrategie zur stereoselektiven Ribosylierung von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-serin-*tert*-butylester **59** mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzyl- β -D-ribofuranose **60** über das instabile Bromid **61** wurde 2003 von Gravier-Pelletier und Mitarbeitern beschrieben (Abb. 2.16).^[161] Bei dieser konnte das β -Anomer **62** erhalten

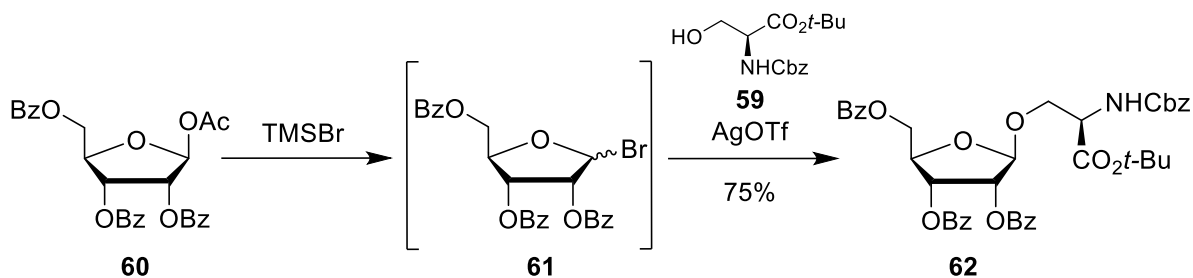


Abb. 2.16 Glycosylierungsmethode nach Gravier-Pelletier und Mitarbeitern.^[161]

werden, wobei dies einem Nachbargruppeneffekt der Benzoylgruppe zuzuschreiben war. Zur Darstellung des 1-Brom-Derivats **61** wurde Trimethylsilylbromid genutzt. Im Anschluss erfolgte die Kupplungsreaktion zwischen dem Ribosyl-Donor und dem Ribosyl-Akzeptor unter Verwendung von Silbertrifluormethansulfonat (AgOTf), um das austretende Bromid abzufangen. Die Verwendung von AgOTf stellte sich als am Geeignetesten heraus, da die *N*-Boc-Schutzgruppe an der Amino-Funktion des L-Serin-*tert*-butylesters **54** bei der Kupplungsreaktion nicht stabil gegenüber anderen verwendeten Lewis-Säuren war.^[161]

Eine alternative Ribosylierungsmethode wurde von Richard R. Schmidt etabliert. Hier wird der Glycosyl-Donor zunächst in eine aktivierte Trichloracetimidat-Spezies überführt (ohne Abbildung). Zunächst wurde von Schmidt eine Aktivierung der Alkoholfunktion mit der Base Natriumhydrid etabliert.^[162] Später wurde eine mildere Aktivierung mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)^[163] oder mit Polymer-Supported-DBU (PS-DBU)^[164] genutzt. Im letztgenannten Fall konnte auf eine säulenchromatographische Reinigung des

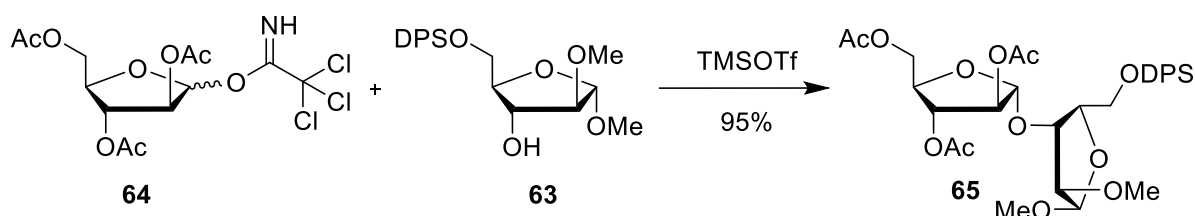


Abb. 2.17 Glycosylierungsmethode mit Trichloracetimidaten nach R. R. Schmidt.^[165]

instabilen Trichloracetimidats verzichtet werden. In der nachfolgenden Glycosylierungsreaktion des Alkohols **63** mit dem Trichloracetimidat **64** wurde mit katalytischen Mengen der Lewis-Säure Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) gearbeitet, um Nebenprodukte zu vermeiden und das Glycosylierungsprodukt **65** zu erhalten, wobei in diesem Fall erneut ein Nachbargruppeneffekt eine Rolle spielte (Abb. 2.17).^[165] Dabei muss generell betont werden, dass diese Reaktion mit Trichloracetimidaten nach R. R. Schmidt teilweise S_N2-artig verlaufen können.

Eine weitere Möglichkeit bietet eine Glycosylierungsmethode mit Thioglycosiden als Donoren. Dabei konnte das Thioglycosid aus dem entsprechenden 1-*O*-Acetyl-Glycosid mithilfe der Lewis-Säure Bortrifluorid-Diethyletherkomplex (BF₃·Et₂O) dargestellt werden.^[166] Die weitere Umsetzung in einer Glycosylierung war mit *N*-Iodsuccinimid (NIS) in Acetonitril mit Trifluormethansulfonsäure (TfOH) möglich. Eine mildere Methode war durch den Einsatz von Dimethyl(methylthio)-sulfoniumtrifluormethansulfonat (DMTST) beschrieben (Abb. 2.18). Dabei wurden Thioglycoside des Typs der Verbindung **66** mit Alkohol **67** (SpOH) bei tiefen Temperaturen zum Glycosylierungsprodukt des Typs **68** umgesetzt.^[167] Dass eine Aktivierung der Thioglycoside auch auf noch mildere Weise mit

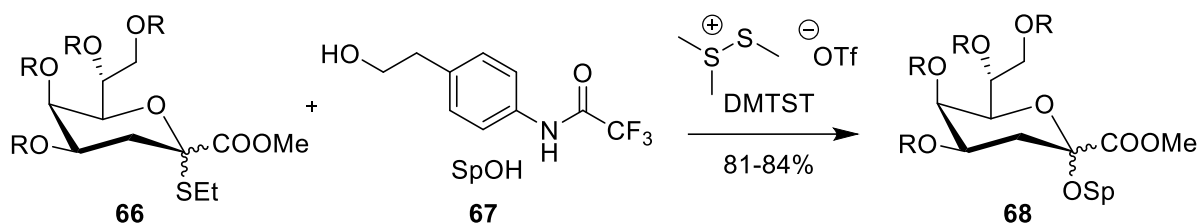


Abb. 2.18 Glycosylierungsmethode mit Thioglycosiden.^[167]

Tetrabutylammoniumbromid und Kupfer(II)bromid möglich war, wurde von Thiem und Ludewig berichtet (ohne Abbildung).^[168]

Eine weitere effektive Glycosylierungsmethode, die sich wie die vorherigen Methoden zur Einführung des Aminoribose-Motives in Muraymycin-Analoga eignen könnte wurde von Bert Fraser-Reid beschrieben.^[169] Dabei nutzt eine Variante wiederum Trifluormethansulfonsäure (TfOH) als Aktivator. In einer zweiten wesentlich mildereren Abwandlung wurde das Pentenylglycosid **69** mit dem Alkohol **70** unter Zugabe der wesentlich mildereren Lewis-Säure Triethylsilyltrifluormethansulfonat (TESOTf) und *N*-Iodsuccinimid (NIS) als Aktivatoren zum Glycosylierungsprodukt **71** umgesetzt (Abb. 2.19).^[169] Dabei verläuft die Reaktion mechanistisch betrachtet über ein Iodonium-Ion mit anschließender Abspaltung eines Tetrahydrofuran-Derivates. Der Glycosyl-Akzeptor greift anschließend das entstandene Carbokation an. Der Ausgang der Reaktion ist jeweils von der Gruppe X abhängig. Mit Estern kann ein Nachbargruppeneffekt erzeugt werden, der im 1,2-*trans*-Produkt resultiert. Mit Ethern entsteht bevorzugt das 1,2-*cis*-Produkt (Abb. 2.19).^[170]

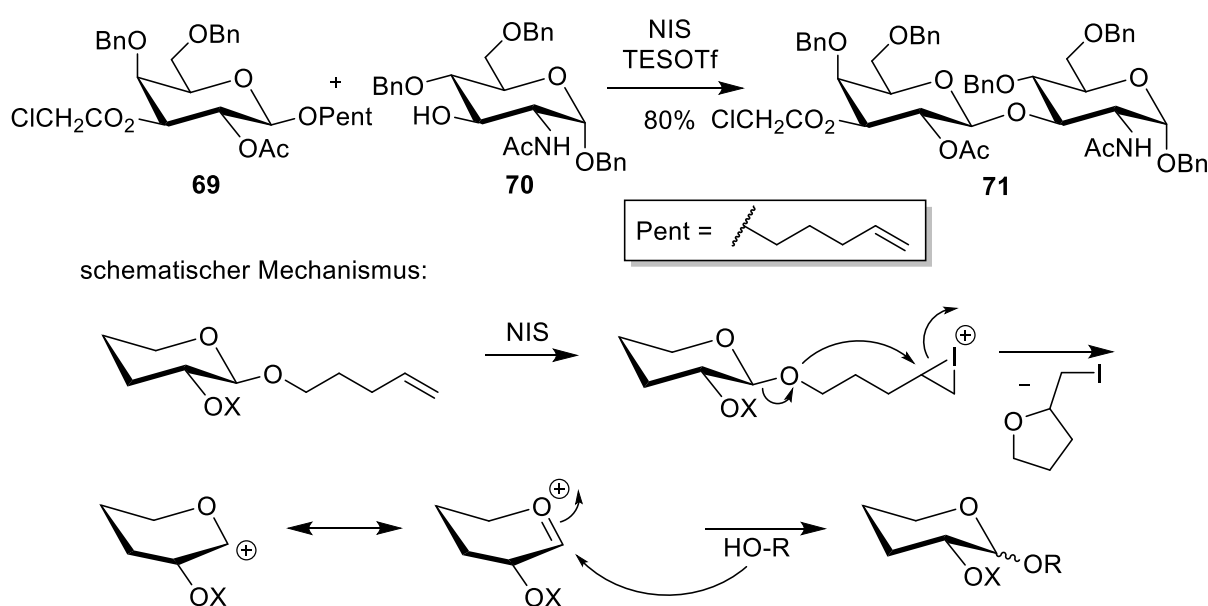


Abb. 2.19 Glycosylierungsmethode nach Bert Fraser-Reid^[169] und der Mechanismus der Umsetzung.^[170]

3. Aufgabenstellung und Planung der Arbeit

Neue Strategien zur Entwicklung von Derivaten der Muraymycin-Antibiotika mit verbesserter biologischer Aktivität

3.1 Neuartige Muraymycin-Prodrugs

3.1.1 Aufgabenstellung

Viele der bisher synthetisch dargestellten Muraymycine und deren vereinfachte Analoga, wie das von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern generierte Muraymycin D2 **22** und das in der Arbeitsgruppe Ducho synthetisierte 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40**, zeigten inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegenüber *MraY* aus *B. subtilis* beziehungsweise *S. aureus*. Für **40** konnte eine moderate antibakterielle Aktivität gegen *E. coli* DH5 α festgestellt werden, wobei für das Muraymycin D2 **22** kaum antibakterielle Aktivität gegen *S. aureus*, *E. faecalis* und *E. faecium* gezeigt werden konnte (MIC > 64 $\mu\text{g/mL}$).^[171] Dies legt die Vermutung nahe, dass diese Nucleosid-Antibiotika durch ihre Polarität eine limitierte Zellgängigkeit aufweisen und nicht in die Bakterien-Zelle gelangen können, um am aktivem Zentrum des Membranproteins *MraY* auf der cytosolischen Seite zu binden. Muraymycin-Derivate mit erhöhter Lipophilie sollten die Zellmembran, bestehend aus einer lipophilen Lipid-Doppelschicht, besser überwinden können und somit eine höhere antibiotische Aktivität aufweisen. Um dies zu überprüfen nahmen Ichikawa, Matsuda und Mitarbeiter Modifikationen mit lipophilen Resten anstelle des Leucin- beziehungsweise Hydroxy-Leucin-Restes am Muraymycin-Gerüst vor. Dies verbesserte zwar die Minimale Inhibitorische Konzentration, beispielsweise für eine eingeführte C₁₅-Alkylkette (MIC = 0.25-4 $\mu\text{g/mL}$ gegen die oben genannten Stämme), beeinträchtigte jedoch die inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegenüber dem Zielprotein *MraY* (IC₅₀ = 330 nM aus *B. subtilis*, vgl. IC₅₀ (**22**) = 10 nM aus *B. subtilis*).^[171] Somit scheint die Zellgängigkeit bezüglich der antibiotischen Potenz der Muraymycine eine nicht vernachlässigbare Rolle zu spielen. Die von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern erarbeitete Strategie zur Erhöhung der Lipophilie resultierte jedoch offensichtlich in einer schlechteren Bindung des Wirkstoffes an das Enzym *MraY*. Mithilfe des Prodrug-Konzeptes sollte sich dieses Problem umgehen lassen, da durch lipophile Maskierungen von polaren funktionellen Gruppen derselbe Effekt einer besseren Aufnahme der Verbindung in die Bakterienzelle hervorgerufen werden könnte. Nach Freisetzung des Muraymycin-Antibiotikums durch die Abspaltung der Maskierungsgruppen von zelleigenen Enzymen sollte dieses anschließend an

das Target MraY binden können, ohne dass die inhibitorische *in vitro*-Aktivität verringert wird. Dieser Ansatz steht im Kontrast zur bisherigen Anwendung von Prodrug-Konzepten bei antimikrobiellen Wirkstoffen, wo der Prodrug-Ansatz meist der Verbesserung oraler Bioverfügbarkeit (Cefditorenpivoxil, Cefpodoximproxetil, vgl. Kapitel 2.6) aber nicht der bakteriellen Zellaufnahme diene.

Daher sollte die Aufgabe in diesem Teilprojekt vorliegender Dissertation die Darstellung neuartiger Muraymycin-Prodrugs sein. In dieser konzeptionellen Studie war es zunächst nicht das Ziel beispielsweise oral applizierbare Wirkstoffe als Antibiotikum zu generieren. Vielmehr sollte überprüft werden, ob generell eine verminderte Zellgängigkeit der Muraymycin-Stammverbindungen die schlechte antibiotische Aktivität hervorrief und sich diese durch Einführung von Maskierungsgruppen und damit erhöhter Lipophilie verbessern ließ. Zudem sollten erste Stabilitätstests dieser Verbindungen durchgeführt werden. Der Ansatz einer Synthese sollte in einen von Ducho und Mitarbeitern erarbeiteten dreiteiligen Ansatz^[79,132] zur stereoselektiven Darstellung von Muraymycin-Analoga eingebaut und somit modular gestaltet werden. Als Säure-Maskierungsgruppen wurden Pivaloyloxymethyl-(POM)-Gruppen verwendet, da eine Einführung auf einfachem Wege über Alkylierungsreaktionen gelingen und diese Gruppe auch eine gewisse Säure- und Base-Stabilität gegenüber den entsprechenden Reaktionsbedingungen aufweisen sollte. Als Verbindung einer ersten Generation sollte zunächst ein verkürztes Muraymycin-Prodrug **72** dargestellt werden, welches durch eine abschließende Acetyl-Gruppe nachahmen sollte, dass

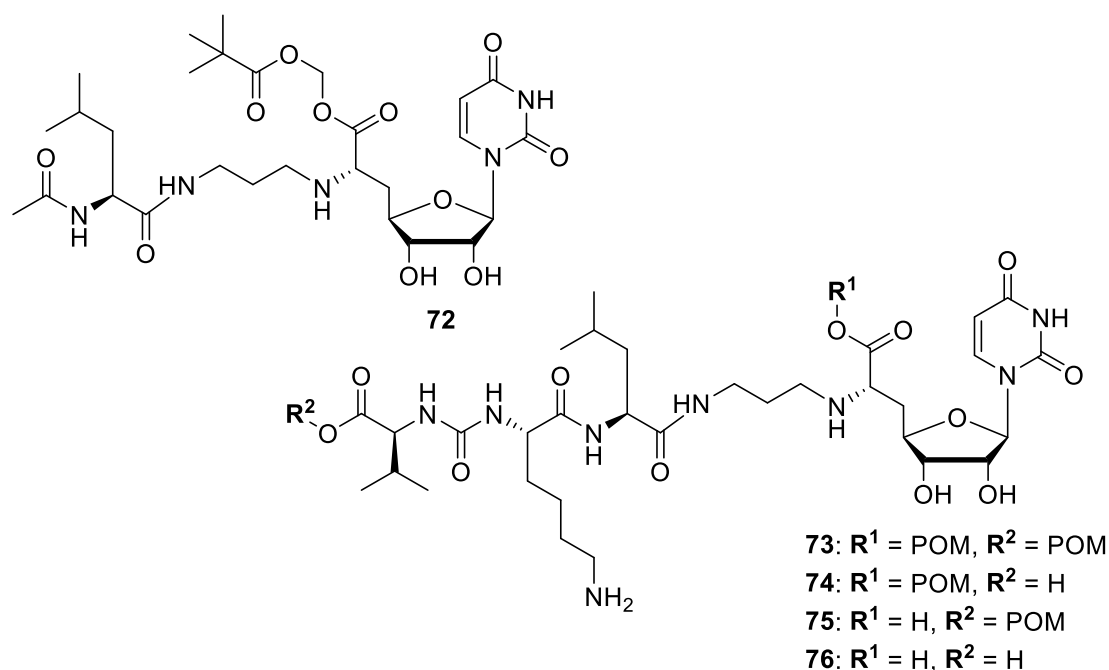


Abb. 3.1 Die Zielverbindungen vorliegender Arbeit: Das Bis-POM-Prodrug **73**, die Mono-POM-Prodrugs **74** und **75**, die freizusetzende Stammverbindung **76** sowie das verkürzte Muraymycin-Prodrug **72**.

in Muraymycinen vollständiger Länge weitere Aminosäuren folgen (Abb. 3.1). Basierend auf dieser Verbindung **72** sollte der generelle Einfluss eines POM-Esters im Molekül in Stabilitätstests geklärt werden, da es in der Literatur auch Präzedenz für die biologische Aktivität verkürzter Muraymycin-Analoga gibt.^[118] Entgegen dieser Feststellung wurde in den letzten Jahren in der Arbeitsgruppe Ducho festgestellt, dass solche Analoga nur sehr schwache bis keine antibakterielle Aktivität aufweisen. Aus diesem Grunde sollten in vorliegender Arbeit weitere Muraymycin-Prodrugs, sowie die Muraymycin-Analoga in den anderen beiden Teilprojekten dieser Dissertation (vgl. Kapitel 3.2 und Kapitel 3.3) mit vollständiger Peptidkettenlänge dargestellt werden.

Die Darstellung einer Reihe von POM-maskierten Prodrugs der zweiten Generation basierend auf Muraymycinen in voller Länge sollte drei verschiedene Wirkstoffe **73**, **74** und **75** beinhalten (Abb. 3.1), die sich in der Art und Weise der POM-Maskierung unterscheiden sollten. Aufgrund der leichteren synthetischen Zugänglichkeit wurde die nicht-proteinogene Aminosäure Epicapreomycin durch L-Lysin ersetzt, Leucin anstelle von Hydroxy-Leucin genutzt, sowie auf die 5'-Desoxy-Modifizierung zurückgegriffen. Für die Stammverbindung **76**, die bereits erfolgreich in der Arbeitsgruppe Ducho dargestellt werden konnte und diese Modifikationen aufwies, war zuvor bereits eine inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegen *MraY* bestimmt worden ($IC_{50} = 2.5 \pm 0.6 \mu M$, *MraY* aus *S. aureus*). Die POM-Maskierungsgruppen sollten nach Eintritt in die Bakterienzelle von zelleigenen Esterasen gespalten und die biologisch aktive Stammverbindung **76** auf diese Weise freigesetzt werden. Die Synthese dieser Referenzverbindung **76** sollte nachvollzogen werden um die Reihe zu vervollständigen (Abb. 3.1). Auf diese Weise sollte in anschließenden Aktivitäts- (IC_{50} , MIC) und Stabilitätstests (Puffer, Plasma, Serum, Nährmedium, Zelllysate, Esterase) überprüft werden, inwiefern eine Maskierung im Allgemeinen sowie eine Maskierung an unterschiedlichen Stellen im Molekül zu einer verbesserten Zellgängigkeit beitragen könnte.

3.1.2 Planung und retrosynthetische Betrachtungen

Aus retrosynthetischer Sicht sollte lediglich der letzte Teil des dreiteiligen Syntheseansatzes fehlen und sich das verkürzte Prodrug **72** mithilfe einer reduktiven Aminierung aus dem primären Amin **77** und dem neuartigen L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **78** und anschließender globaler saurer Entschützung darstellen lassen (Abb. 3.2). Die Nucleosyl-Aminosäure **77** sollte mithilfe einer Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] gefolgt von einer homogenen asymmetrischen Hydrierung^[149,150] mittels eines chiralen Katalysators aus dem Uridin-5'-

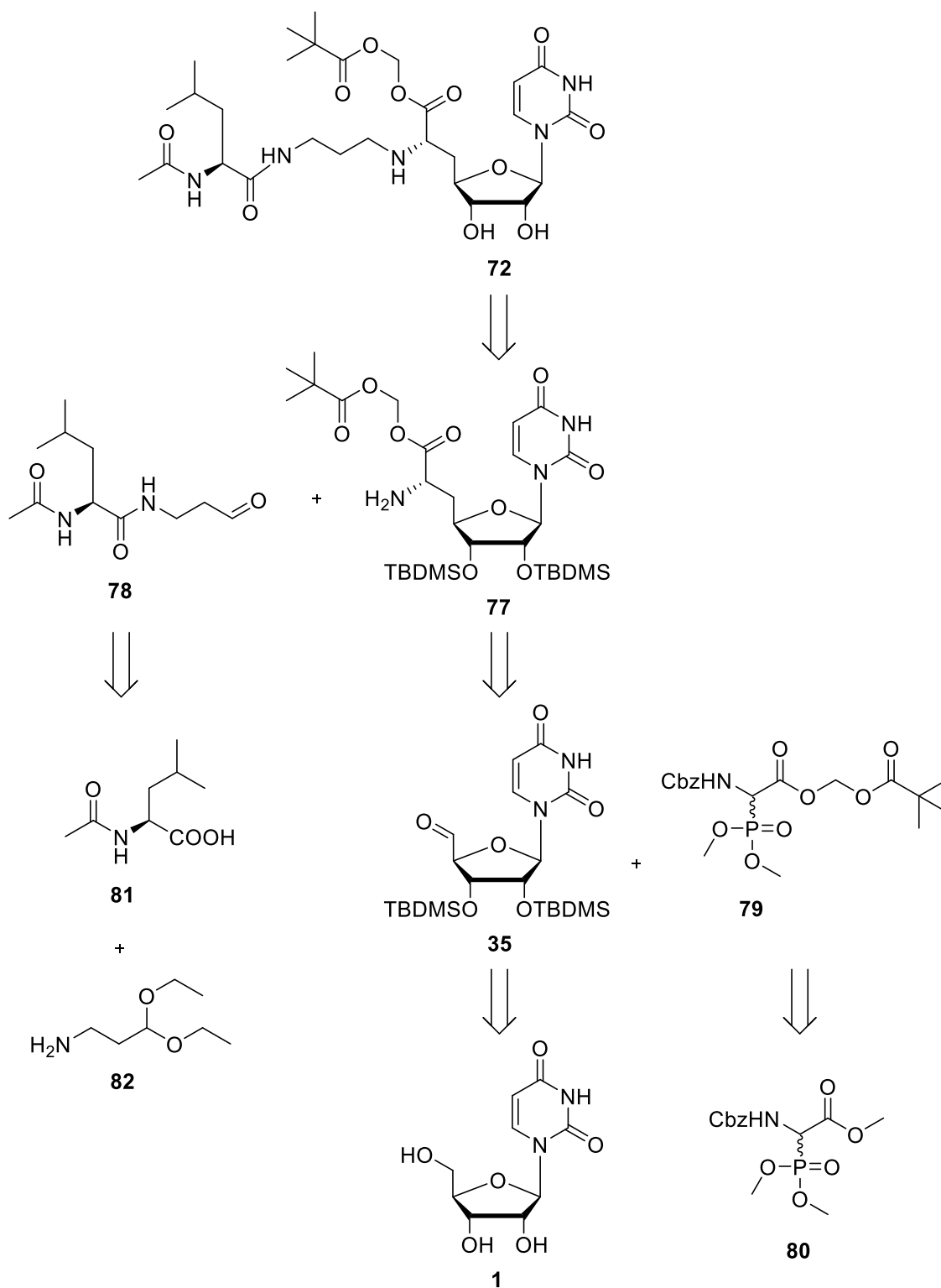


Abb. 3.2 Retrosynthese des verkürzten Muraymycin-Prodrugs **72**.

Aldehyd **35** und einem neuartigen *N*-Cbz-geschützten POM-Ester-Phosphonat **79** aufgebaut werden. Die Bedingungen dieser Reaktionen waren bereits in der Arbeitsgruppe Ducho etabliert.^[132,140] Einen Schlüsselschritt dieser Synthese sollte die anschließende hydrogenolytische Cbz-Entschützung darstellen, die das Amin **77** liefern würde, da nicht

vorhergesagt werden konnte, wie sich ein primäres Amin mit der POM-Gruppe im Molekül verhalten würde (Abb. 3.2).

Das neuartige POM-Ester-Phosphonat **79** sollte aus dem bereits in der Arbeitsgruppe Ducho dargestellten korrespondierenden Methylester-Phosphonat **80** generiert werden, indem dieses

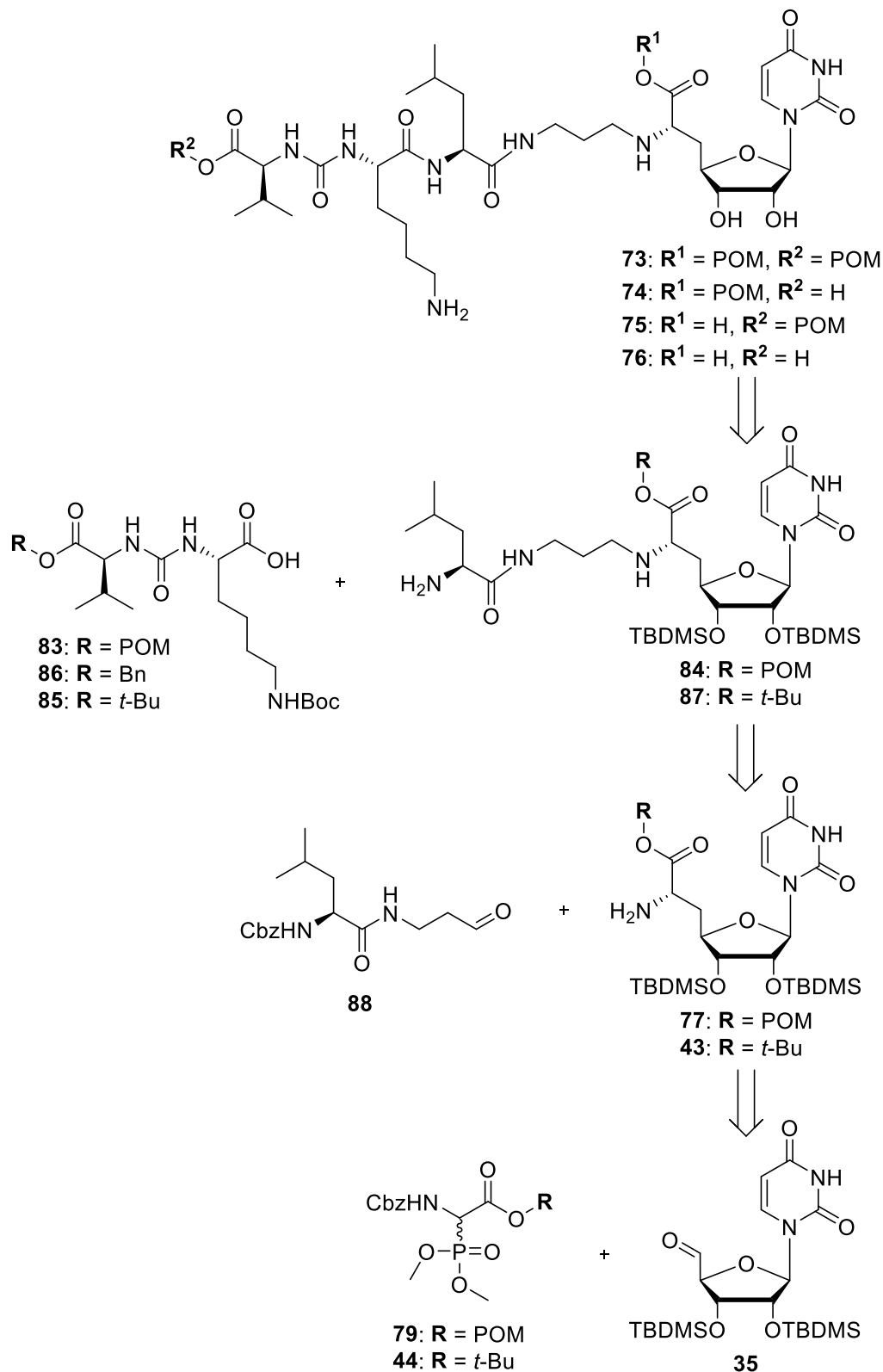


Abb. 3.3 Retrosynthese der Muraymycin-Prodrugs **73**, **74** und **75** sowie der freizusetzenden Stammverbindung **76**.

nach Verseifung mit Pivaloyloxymethylchlorid oder Pivaloyloxymethyliodid umgesetzt werden sollte. Der neuartige Aldehyd **78** sollte sich ausgehend von *N*-Acetyl-L-leucin **81** und Amin **82** darstellen lassen (Abb. 3.2).

Der benötigte Uridin-5'-Aldehyd **35** sollte ausgehend von Uridin **1** nach einer bekannten Strategie mittels Tris-TBDMS-Schützung, selektiver 5'-Entschützung und Oxidation dargestellt werden (ohne Abbildung).^[133,172] Dieser sollte nachfolgend für alle dieser Arbeit zugrunde liegenden Darstellungen von Muraymycinen genutzt werden.

Die POM-Ester-Muraymycin-Prodrugs **73**, **74** und **75**, sowie die freizusetzende Stammverbindung **76** sollten in einer Peptidkupplung mit anschließender globaler saurer Entschützung dargestellt werden (Abb. 3.3).^[132] Für das Bis-POM-Prodrug **73** sollten dazu das neuartige POM-modifizierte Harnstoffdipeptid **83** und das primäre Amin **84** zum Einsatz kommen. **83** sollte ausgehend von L-Valin und L-Lysin in einer Harnstoffkupplung als Schlüsselsschritt dargestellt werden (ohne Abbildung). Für das Mono-POM-Prodrug **74**, bei dem die Carboxyl-Gruppe am Nucleosyl-Aminosäure-Motiv POM-maskiert ist, sollte das primäre Amin **84** und als Harnstoffdipeptid Verbindung **85** genutzt werden, welches in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellt wurde. Je nach Stabilität des eingebauten POM-Esters könnte auch das Benzylester-Harnstoffdipeptid **86** für die Peptidkupplung genutzt werden, welches sich auf analoge Weise wie Verbindung **83** darstellen lassen sollte. Dabei kann in einer zweistufigen Entschützung die Benzylgruppe hydrogenolytisch gespalten und bei der sauren Entschützung auf wesentlich mildere saure Bedingungen zurückgegriffen werden. Für das Mono-POM-Prodrug **75** mit einer an der Peptidkette terminalen POM-Maskierung sollten das Harnstoffdipeptid **83** und das primäre Amin **87** Anwendungen finden. Die freizusetzende Referenzverbindung **76** sollte aus den jeweils *tert*-Butylester-geschützten Vorläufern **87** und **85** generiert werden (Abb. 3.3). Ob die POM-Ester den sauren Bedingungen der globalen Entschützung standhalten würden, sollte im Verlauf dieser Arbeit geklärt werden. Sollte dies nicht der Fall sein, müssten die Bedingungen hin zu einer milderen Entschützung optimiert werden.

Die weitere Synthese sollte analog zum verkürzten Muraymycin-Prodrug realisiert werden, wobei anstelle des Aldehyds **78** der Aldehyd **88** genutzt werden sollte, der in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellt wurde. Für die Generierung der *tert*-Butylester-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **43**^[140] konnte in der Wittig-Horner Reaktion^[143,144] das Phosphonat **44**^[145–148] genutzt werden, dessen Synthese bereits in der Arbeitsgruppe Ducho etabliert war. (Abb. 3.3).

3.2 Propylverlinkte aminoribosylierte Muraymycin-Analoga

3.2.1 Aufgabenstellung

Wie beschrieben wurden in der Arbeitsgruppe Ducho Synthesestrategien zu vereinfachten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga wie dem 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40** etabliert.^[132] Ausgangspunkt der Entwicklung dieser synthetisch leichter zugänglichen Analoga war die Erkenntnis, dass die Aminoribose-Einheit an der 5'-Position nicht in allen biologisch aktiven Muraymycinen vorhanden ist und dass auch die 5'-Hydroxy-Funktion nicht essentiell für die Bindung an *MraY* zu sein schien.^[117] 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40** weist eine deutliche inhibitorische Aktivität gegenüber *MraY* aus *S. aureus* ($IC_{50} = 95 \pm 19$ nM) auf, die ca. halb so gut wie die des Nucleosid-Antibiotikums Tunicamycin ($IC_{50} = 42 \pm 16$ nM, *MraY* aus *S. aureus*) ist. Die Aminoribose leistet jedoch offensichtlich einen Beitrag zur Bindung an *MraY*, da die inhibitorische Aktivität für Muraymycin D2 **22** höher ist, wobei die Werte auf der Grundlage unterschiedlicher Assays nur schwer vergleichbar sind.^[171]

In diesem Teilprojekt vorliegender Dissertation sollten daher stereoselektive und effiziente Darstellungen des (6'*S*)-konfigurierten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **89** und des (6'*S*)-konfigurierten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **90** mit neuen Gerüststrukturen entwickelt werden (Abb. 3.4), um weitere Einblicke in die Rolle der Aminoribose und in die Signifikanz ihrer Position innerhalb des Moleküls zu erlangen. Diese Verbindungen sollten synthetisch leichter zugänglich sein als naturstoffanaloge aminoribosylierte Muraymycine. Für die Positionierung der Aminoribose-Einheit in **89** spricht die Cokristall-Struktur von *MraY* mit Muraymycin D2 **22**, die

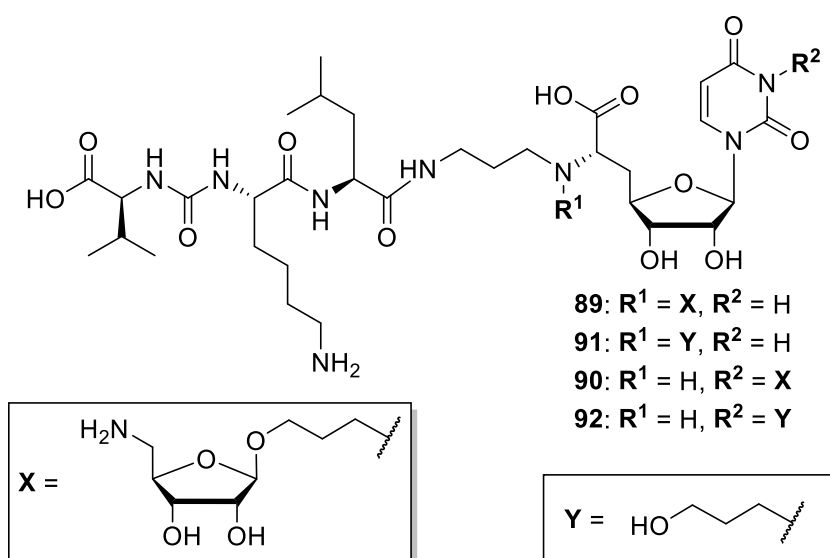


Abb. 3.4 Synthese der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga.

hinreichenden Platz in der Umgebung des 6'-Amins suggeriert.^[105] Für die Struktur von **90** spricht die berichtete biologische Aktivität einiger Uracil-modifizierter Muraymycin-Analoga.^[118] Analog zu den Prodrugs (vgl. Kapitel 3.1.1) sollten auch hier die Vereinfachungen des Analogons **76** angewendet werden. Das Aminoribose-Motiv sollte über einen Propylrest als Spacer an das Molekül gebunden werden, um eine Beweglichkeit der Aminoribose-Einheit und eine gewisse konformationelle Flexibilität der Muraymycin-Analoga für die Bindung an das Enzym zu gewährleisten. Da zum Zeitpunkt des Designs der Verbindungen keine Information über die Lage des Inhibitors im aktiven Zentrum von MraY vorlag, sollte auf diese Weise sichergestellt werden, dass der Aminoribose-Rest eine optimale Position im aktiven Zentrum des Enzyms einnehmen kann. Als Referenzverbindungen sollten zusätzlich die desaminoribosylierten Muraymycin-Analoga **91** und **92** dargestellt werden, die nur den Propyllinker mit primärer Hydroxy-Funktion beinhalten sollten, um den Einfluss der Aminoribose genauer einzugrenzen und den generellen Einfluss von Substituenten in 6'-N- und N3-Position zu evaluieren (Abb. 3.4).

3.2.2 Planung und retrosynthetische Betrachtungen

Dem etablierten stereoselektiven Syntheseansatz folgend (vgl. Kapitel 3.1.2) sollten auch im zweiten Teilprojekt der Dissertation die aminoribosylierten und desaminoribosylierten Verbindungen **89**, **90**, **91** und **92** retrosynthetisch betrachtet über eine Peptidkupplung mit dem Harnstoffdipeptid **85** mit anschließender globaler saurer Entschützung erhalten werden (Abb. 3.5).^[132] Dabei war man sich bereits der Labilität der acetalisch-glycosidischen Bindung aufgrund der besonderen Exponiertheit der Aminoribose am Propyllinker aus Vorarbeiten bewusst.^[173] In zu entwickelnden mild sauren Bedingungen sollten dabei die aminoribosylierten Zielverbindungen **89** und **90** dargestellt werden. Die desaminoribosylierten Referenzverbindungen **91** und **92** sollten über harschere saure Entschützungsbedingungen unter Spaltung der glycosidischen Bindung zugänglich gemacht werden.

Die entsprechend verkürzten 6'-N- und N3-aminoribosylierten Vorläufer **93** und **94** sollten ausgehend von der Nucleosyl-Aminosäure **43** dargestellt werden (Abb. 3.5). Für das 6'-N-modifizierte Analogon **93** sollten dabei zwei aufeinander folgende reduktive Aminierungen mit dem in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellten Aldehyd **88** und dem Aminoribose-abgeleiteten Aldehyd **95** nach den etablierten Reaktionsbedingungen zum Einsatz kommen.^[132] Dabei war aus Vorarbeiten bekannt, dass die Umsetzung nur gelang, wenn eine

Reaktion zuerst mit **95** und anschließend mit **88** erfolgte.^[173] Für den *N*3-modifizierten Vorläufer **94** sollte ebenfalls die reduktive Aminierung mit Aldehyd **88** erfolgen, die Nucleobase jedoch anschließend in einer Alkylierung mit Tosylat **96**, das sich aus dem Aminoribose-abgeleiteten Aldehyd **95** darstellen lassen sollte, aminoribosyliert werden (Abb. 3.5). Der Aldehyd **95** sollte sich wiederum ausgehend von D-Ribose in einer einfachen etablierten Schutzgruppenstrategie^[123] gefolgt von einer Glycosylierung mit anschließender Ozonolyse als Schlüsselschritte darstellen lassen (ohne Abbildung). Die Darstellung der

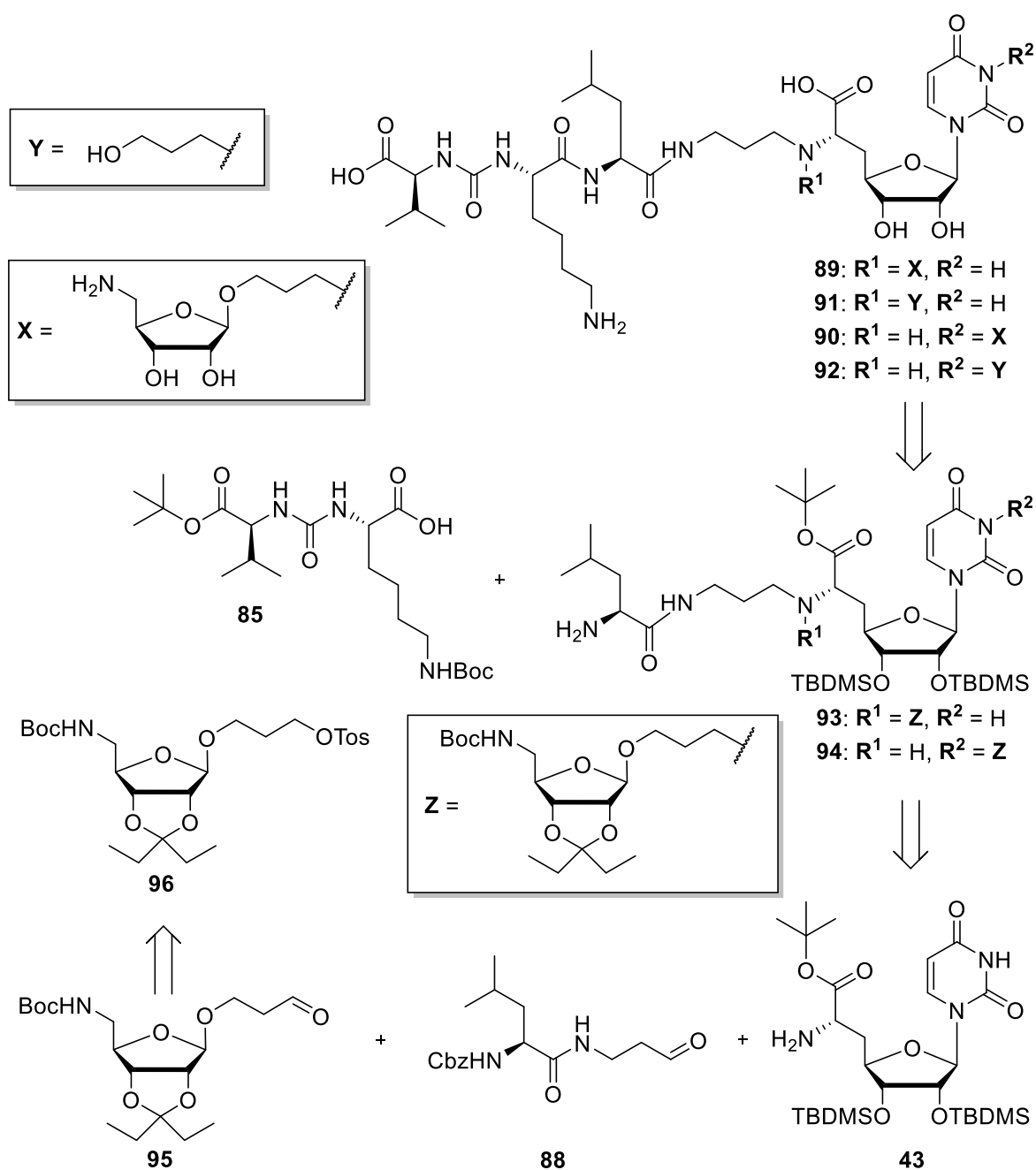


Abb. 3.5 Retrosynthese der aminoribosylierten Muraymycin-Analoga **89** und **90** sowie der desaminoribosylierten Referenzverbindungen **91** und **92**.

Nucleosyl-Aminosäure **43** sollte auf bekannte Weise^[140] und unter analogen Reaktionsbedingungen wie in der Synthese der Muraymycin-Prodrugs erfolgen (vgl. Kapitel 3.1.2).

3.3 Das (5'S,6'S)-konfigurierte 5'-aminoribosylierte Muraymycin-Analogon **97**

3.3.1 Aufgabenstellung

Da die 5'-Aminoribose in den meisten biologisch aktiven Muraymycin-Naturstoffen vorhanden ist, sollte im dritten Teilprojekt vorliegender Dissertation das (5'S,6'S)-konfigurierte 5'-aminoribosylierte Muraymycin-Analogon **97**, ein Lysin-Analogon von Muraymycin D2 **22**, synthetisiert werden (Abb. 3.6). In anschließenden Tests sollte die

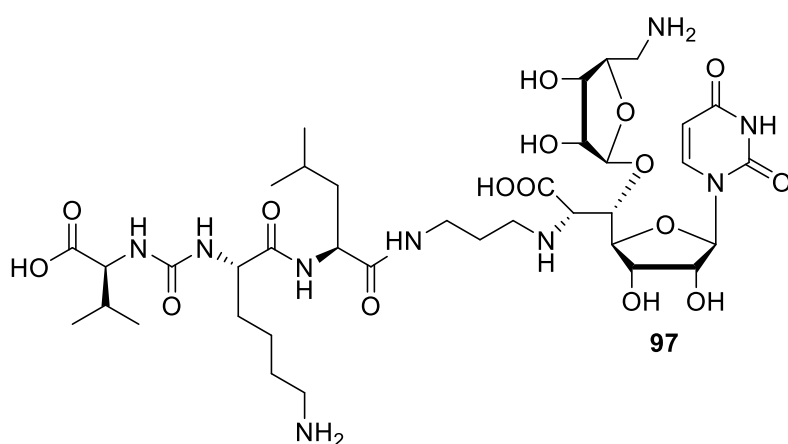


Abb. 3.6 (5'S,6'S)-5'-aminoribosyliertes Muraymycin-Analogon **97**.

Struktur-Aktivitäts-Beziehung durch Vergleich mit der Referenzverbindung **76**, die sich nur durch die fehlende Aminoribose von Verbindung **97** unterscheiden sollte, weiter erforscht werden. An dieser Stelle erhoffte man sich weitere Einblicke in die Relevanz der Aminoribose in

Muraymycin-Antibiotika. Erste Versuche zur Glycosylierung von 5'- β -Hydroxy-Nucleosyl-Aminosäuren wurden in Grundzügen bereits in der Arbeitsgruppe Ducho durchgeführt. Die gewählten Bedingungen stellten sich jedoch als ungeeignet für die Glycosylierung bei vorliegendem Schutzgruppenmuster aus *tert*-Butylestern und TBDMS-Ethern heraus.^[174] Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte daher eine Glycosylierungsstrategie erarbeitet werden, wobei verschiedene im Kenntnisstand beschriebene Glycosylierungsmethoden (vgl. Kapitel 2.7) Anwendung finden könnten.

3.3.2 Planung und retrosynthetische Betrachtungen

Auch im letzten Teilprojekt sollte die im Zuge der Retrosynthese der Muraymycin-Prodrugs (vgl. Kapitel 3.1.2) beschriebene, etablierte Strategie aus Peptidkupplung von Amin **98** mit Harnstoffdipeptid **85** und reduktiver Aminierung der (5'*S*,6'*S*)-aminoribosylierten Nucleosyl-Aminosäure **99** mit dem Aldehyd **88** zum Einsatz kommen (Abb. 3.7).^[132]

Die (5'*S*,6'*R*)-Nucleosyl-Aminosäure **100** sowie das Threonin-Derivat **101**, welches die (5'*S*,6'*S*)-Stereochemie des Naturstoffes widerspiegelt, sind an dieser Stelle ebenfalls abgebildet. Die zu entwickelnde Glycosylierung sollte anhand dieser synthetisch einfacher zugänglichen Derivate etabliert werden, was für **100** in der (5'*S*,6'*R*)-5'-aminoribosylierten Nucleosyl-Aminosäure **102** resultieren sollte. Aufgrund der zum damaligen Zeitpunkt nicht bekannten Glycosylierungsmethode von Kurosu und Mitarbeitern aus dem Jahr 2016 in der Synthese des Muraymycin D1 **30**,^[111] konnte nicht auf diese zurückgegriffen werden. Eine von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern genutzte Methode in der Generierung des Muraymycin D2 **22**^[124,127] erforderte in der Synthese der aminoribosylierten Nucleosyl-Aminosäure eine hohe Anzahl von Stufen. Nach Studien in der Arbeitsgruppe Ducho verlief eine asymmetrische Aminohydroxylierung nach Sharpless in mäßigen Ausbeuten und nicht vollständig diastereoselektiv. Der Schutzgruppentausch nach der Glycosylierung vom Methylester auf den *tert*-Butylester, welcher in der Glycosylierung nicht toleriert wurde, lieferte ebenfalls nur moderate Ausbeuten.^[175] Aus diesem Grund sollte auch diese Methode umgangen werden und eine neu erarbeitete Glycosylierungsmethode schließlich auf die (5'*S*,6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure **33** übertragen werden (Abb. 3.7). Dabei ist die zu kuppelnde Aminoribose an dieser Stelle noch unbeziffert und am anomeren Zentrum mit einem **X** versehen, da verschiedene Glycosylierungsmethoden getestet werden sollten. Das Aminoribose-Derivat sollte sich in einer einfachen etablierten Schutzgruppenstrategie ausgehend von D-Ribose **103** aufbauen lassen (Abb. 3.7).^[123]

Die beiden Nucleosyl-Aminosäuren **33** und **100** sollten sich anhand von bereits in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Synthesesequenzen ausgehend von den *trans*-Epoxiden **34** und **104** darstellen lassen.^[132,138] Abschließend sollten diese beiden Schlüsselverbindungen wiederum vom Uridin-5'-Aldehyd **33** ausgehend über stereoselektive Schwefel-Ylid-Reaktionen zugänglich sein (Abb. 3.7).^[133]

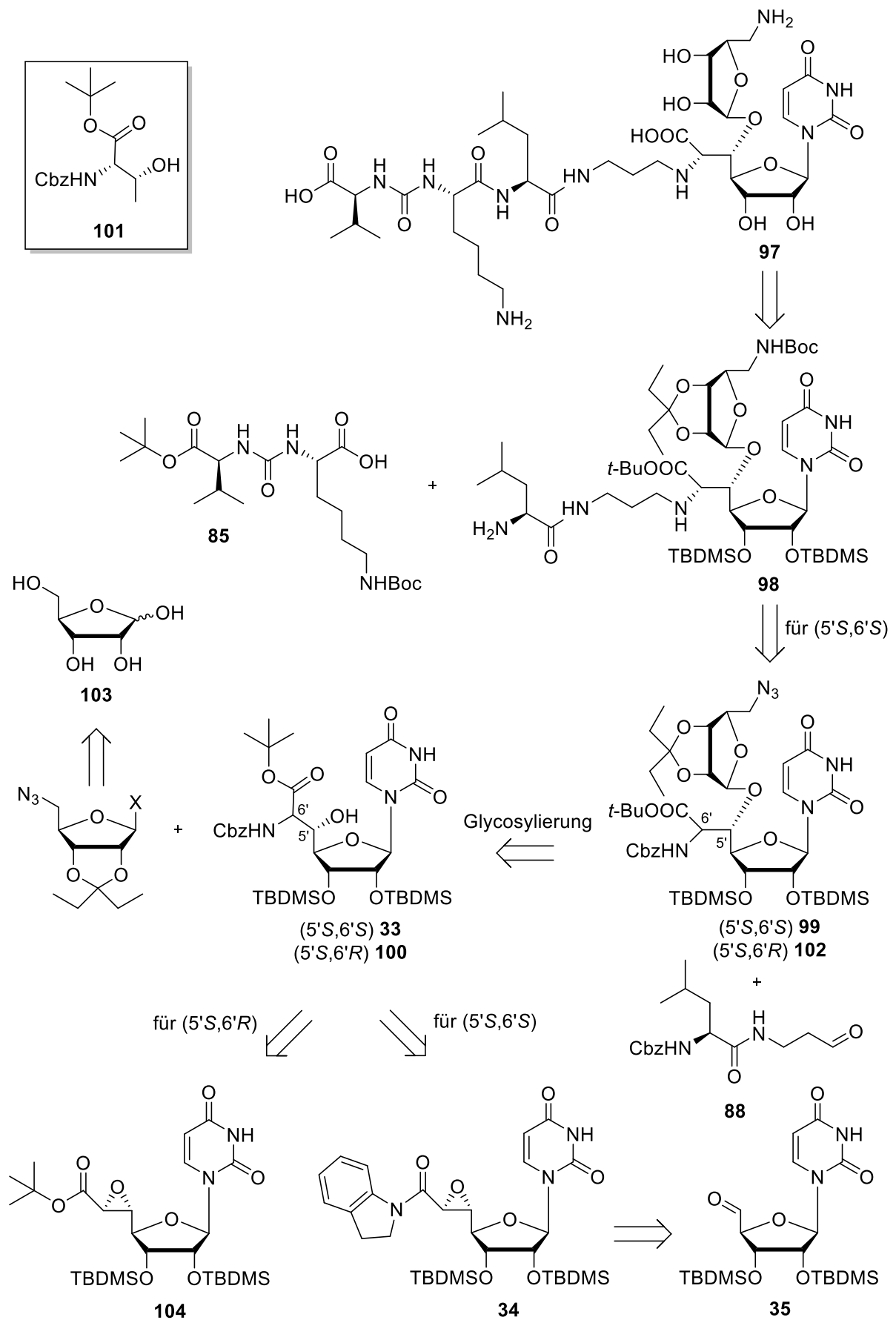


Abb. 3.7 Retrosynthese des (5*S*,6*S*)-5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **97** sowie der (5*S*,6*R*)-Nucleosyl-Aminosäure **100** und Threonin-Derivat **101** als Testverbindungen.

4. Resultate und Diskussion

Für die Darstellung der Ergebnisse ist das folgende Kapitel in der Form gegliedert, dass zunächst die Einzelbausteine nach Substanzklassen hin zu komplexeren Intermediaten und Referenzverbindungen abgehandelt werden (Kapitel 4.1 - 4.9). Anschließend werden die einzelnen Teilbereiche der Aufgabenstellung behandelt, namentlich die Muraymycin-Prodrugs (Kapitel 4.10), die propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga (Kapitel 4.11), sowie das 5'-aminoribosylierte Muraymycin-Analogon **97** inklusive Glycosylierungsstudien (Kapitel 4.12), jeweils mit biologischer Evaluierung der Zielverbindungen. Einige Ergebnisse wurden im Rahmen der von mir betreuten Bachelorarbeiten von Mengxi Shi und Marcel-André Cassano erarbeitet.^[176,177]

4.1 Synthese von Reagenzien und Bausteinen

4.1.1 Synthese von Reagenzien

Bei der literaturbekannten Synthese von 2-Iodoxybenzoesäure (IBX) **105**,^[178] eines milden und etablierten Oxidationsmittels zur Herstellung von Aldehyden, (Abb. 4.1) wurde aufgrund des explosiven Verhaltens des weißen Feststoffes mit äußerster Vorsicht gearbeitet. Eine wässrige Schwefelsäure-haltige Lösung von Kaliumbromat wurde portionsweise mit 2-Iodbenzoesäure **106** versetzt, was als deutlich sicherer galt als eine umgekehrte Vorgehensweise. Nach Filtration und mehrtägiger Trocknung konnte auf diese Weise das IBX **105** in einer Ausbeute von 94% in exzellenter Reinheit dargestellt werden, wobei der genaue Mechanismus der Umsetzung bis heute nicht bekannt ist.

Als Feststoff-gestützte Base wurde aus 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) **107** das Polymer-Supported 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (PS-DBU) **108** generiert (Abb. 4.1).

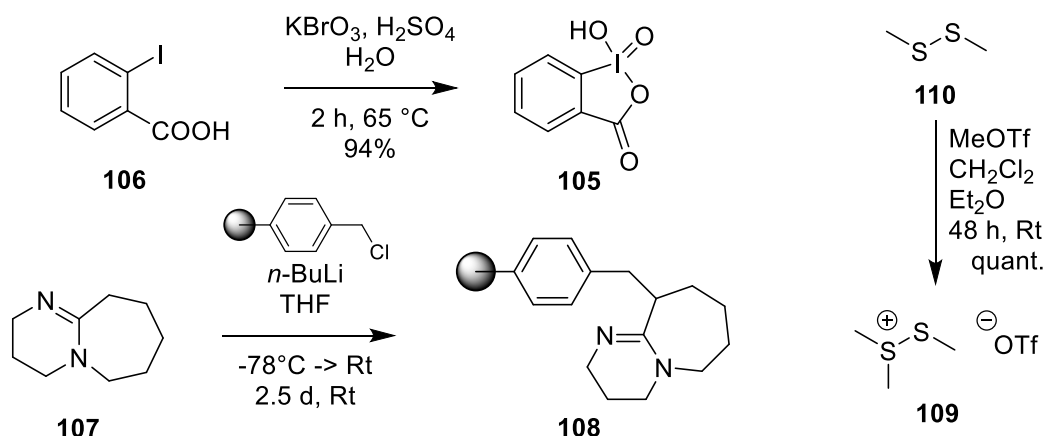


Abb. 4.1 Synthese der Reagenzien IBX **105**, PS-DBU **108** und DMTST **109**.

Dabei wurde eine publizierte Vorschrift verwendet,^[179] in der DBU **107** bei -78 °C mit *n*-Butyllithium versetzt, Merrifield-Harz hinzugegeben und nach langsamem Auftauen 3 d gerührt wurde. Um die Beladung zu bestimmen wurde das PS-DBU mit Bromthymolblau als Indikator titriert.

Als Aktivierungsreagenz von Glycosyl-Donoren für Glycosylierungsreaktionen mit Thioglycosiden wurde Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat (DMTST) **109** nach einer literaturbekannten Methode synthetisiert.^[180] Dabei wurde Dimethyldisulfid **110** mit Methyltriflat versetzt, das DMTST **109** nach 48 h mit Diethylether ausgefällt und in quantitativer Ausbeute erhalten. Da DMTST **109** zum Zerfall neigt und einen Schmelzpunkt nur knapp über der Raumtemperatur aufweist, wurde es meist frisch vor jeder Reaktion dargestellt oder nur wenige Tage unter Inertgas bei -26 °C gelagert.

4.1.2. Synthese von Bausteinen

4.1.2.1. Synthese von Pivaloyloxymethyliodid (POM-I)

Zur Veresterung von Carbonsäuren zu diversen Pivaloyloxymethyl-(POM)-estern wurde das weniger reaktive Pivaloyloxymethylchlorid (POM-Cl) **111** mittels einer Finkelstein-Reaktion, in der POM-Cl **111** mit Natriumiodid umgesetzt wurde, in das äußerst reaktive Pivaloyloxymethyliodid (POM-I) **112** überführt.^[181] Nach Destillation wurde das gewünschte

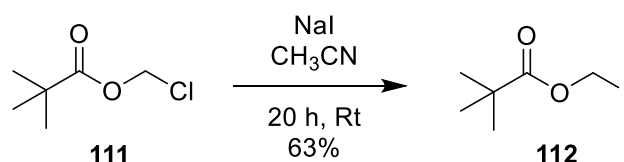


Abb. 4.2 Synthese von Pivaloyloxymethyliodid (POM-I) **112**.

POM-I **112** in einer moderaten Ausbeute von 63% erhalten (Abb. 4.2). Da die Zielverbindung zu Zerfall und Radikalbildung neigt, wurde unter Lichtausschluss gearbeitet und das Produkt unter Inertgas bei -26 °C gelagert. Die moderate Ausbeute ließ sich durch Verluste bei der Vakuumdestillation erklären, aufgrund ausreichender Substanzmengen wurde jedoch auf eine Optimierung verzichtet.

4.1.2.2. Synthese von 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113**

Zur Alkylierung von Nucleosyl-Aminosäure-Spezies mit kurzkettigen Aziden wurde das 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113** von Acrolein **114** ausgehend aufgebaut. Dieses wurde

nach einer publizierten Synthese mit einer wässrigen Natriumazidlösung in Essigsäure umgesetzt.^[182] Das 3-Azidopropanal **115** konnte in einer dürftigen Ausbeute von 17% als leichtflüchtige und instabile Flüssigkeit erhalten werden, die umgehend in den korrespondierenden Alkohol, das 3-Azidopropanol **116**, umgewandelt wurde (Abb. 4.3).

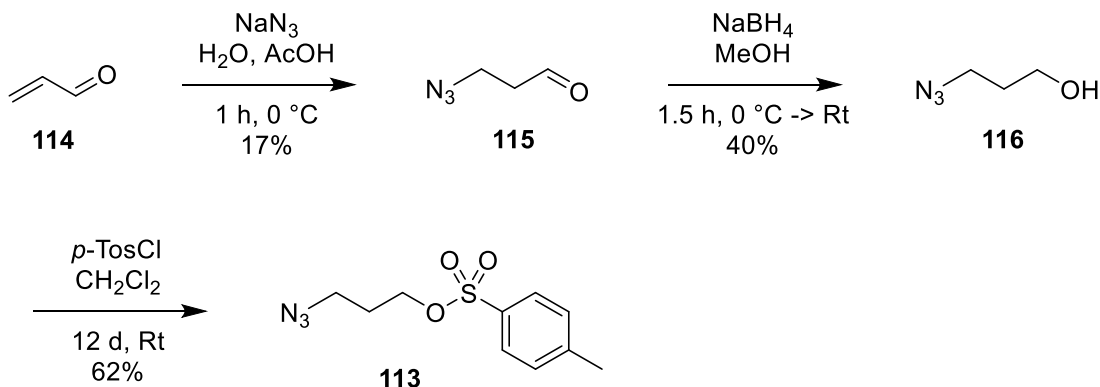


Abb. 4.3 Synthese von 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113**.

Hierzu wurde bei 0 °C mit Natriumborhydrid versetzt und innerhalb von 1 h 15 min auf Raumtemperatur erwärmt. Der ebenfalls flüchtige Alkohol **115** wurde in einer Ausbeute von 40% erhalten, NMR-spektroskopisch identifiziert und ebenfalls ohne Verzögerung in das entsprechende 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113** überführt. Dabei wurde mit einem leichten Überschuss an *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (1.1 Äq.) in Dichlormethan gearbeitet und 12 d gerührt, wobei die Ausbeute 62% betrug. Die schlechte Gesamtausbeute der Synthesesequenz von 4% ist der Instabilität der Zwischenstufen in Verbindung mit den wässrigen Aufarbeitungen und chromatographischen Reinigungen zuzuschreiben, die jedoch eine Reinheit >95% gewährleisteten. Aufgrund günstiger kommerziell bezogener Chemikalien und entsprechender Ansatzgrößen konnte somit auf genug synthetisiertes Material des 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113** zurückgegriffen werden (Abb. 4.3).

4.1.2.3 Synthese der L-Threonin-Derivate **101** und **117**

Als synthetisch einfach zugängliche Modellbausteine wurden der *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101** für Glycosylierungsreaktionen und der L-Threonin-*tert*-butylester **117** für reduktive Aminierungen ausgehend von kommerziell erhältlichem *N*-Cbz-L-Threonin **118** dargestellt. Das Substrat **118** wurde zunächst in einer Veresterung nach Eschenmoser^[183] in Toluol mit *tert*-Butanol auf 110 °C erhitzt und anschließend mit *N,N*-Dimethylformamid-dineopentylacetal **119** über 5.5 h bei dieser Temperatur umgesetzt um die Zielverbindung **101** in einer Ausbeute von 72% zu erhalten (Abb. 4.4). Zur Synthese des L-Threonin-*tert*-butylesters **117** wurde die Carbamat-Schutzgruppe in 1 h unter einer Wasserstoffatmosphäre

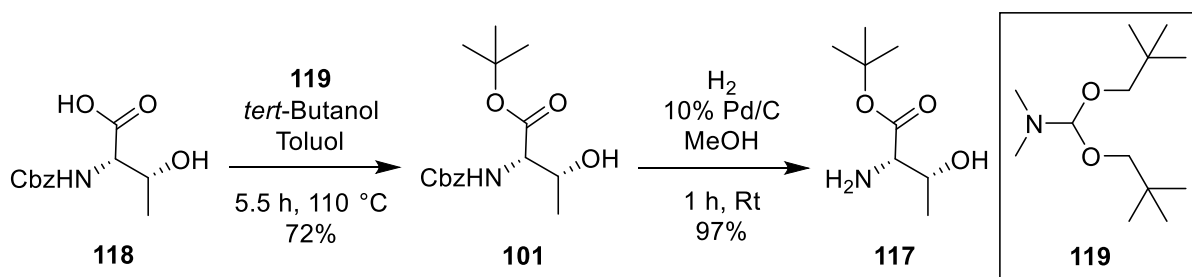


Abb. 4.4 Synthese der L-Threonin-Derivate **101** und **117**.

(1 bar) mit 10% Palladium auf Aktivkohle abgespalten und so die Zielverbindung **117** in einer exzellenten Ausbeute von 97% erhalten. An dieser Stelle muss jedoch festgehalten werden, dass erste Versuche dieser Entschützungsreaktion aufgrund einer überraschenden Flüchtigkeit und Instabilität der Zielverbindung **117** mit deutlich niedrigeren Ausbeuten verliefen, sodass diese zügig umgesetzt oder unter Inertgas und tiefen Temperaturen von $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert wurde (Abb. 4.4).

4.1.2.4 Weitere wichtige Bausteine

Die für den Aufbau verschiedener Nucleosyl-Aminosäuren wichtigen Sulfonium-Salze, das *tert*-Butylester-Sulfonium-Salz **120** und das Indolinamid-Sulfonium-Salz **36** (Abb. 4.5), wurden durch Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho in großen Mengen bereitgestellt^[174] und mussten nicht erneut synthetisiert werden.



Abb. 4.5 Die Sulfonium-Salze **120** und **36**.

4.2. Synthese von Phosphonaten für Wittig-Horner-Reaktionen mit dem Uridin-5'-Aldehyd **35**

Die 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren in der Synthese vereinfachter 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga wurden ausnahmslos unter Zuhilfenahme der bereits in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] entsprechender Phosphonate mit dem Uridin-5'-Aldehyd **35** dargestellt. Neben dem bereits in der Arbeitsgruppe Ducho synthetisierten *tert*-Butylester-Phosphonat **44** sollte bei den Muraymycin-Prodrugs das Phosphonat als Baustein zur Einführung einer Esterase-spaltbaren Pivaloyloxymethyl-

(POM)-Gruppe als Maskierung der Carboxyl-Funktion dienen. Daraus resultierte das POM-Ester-Phosphonat **79**. Die Synthesen sind im Folgenden dargestellt und erläutert.

4.2.1 Synthese des *N*-Cbz-geschützten *tert*-Butylester-Phosphonats **44**

Das *N*-Cbz-geschützte *tert*-Butylester-Phosphonat **44** wurde einer literaturbekannten Syntheseroute folgend dargestellt (Abb. 4.6).^[145–148] Da das racemische *N*-Cbz-geschützte 2-Methoxyglycin-Derivat **121** bereits durch Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellt worden war, konnte die Synthese von diesem aus begonnen werden. Der Vollständigkeit halber ist der erste Schritt der Synthesesequenz, die Umsetzung des

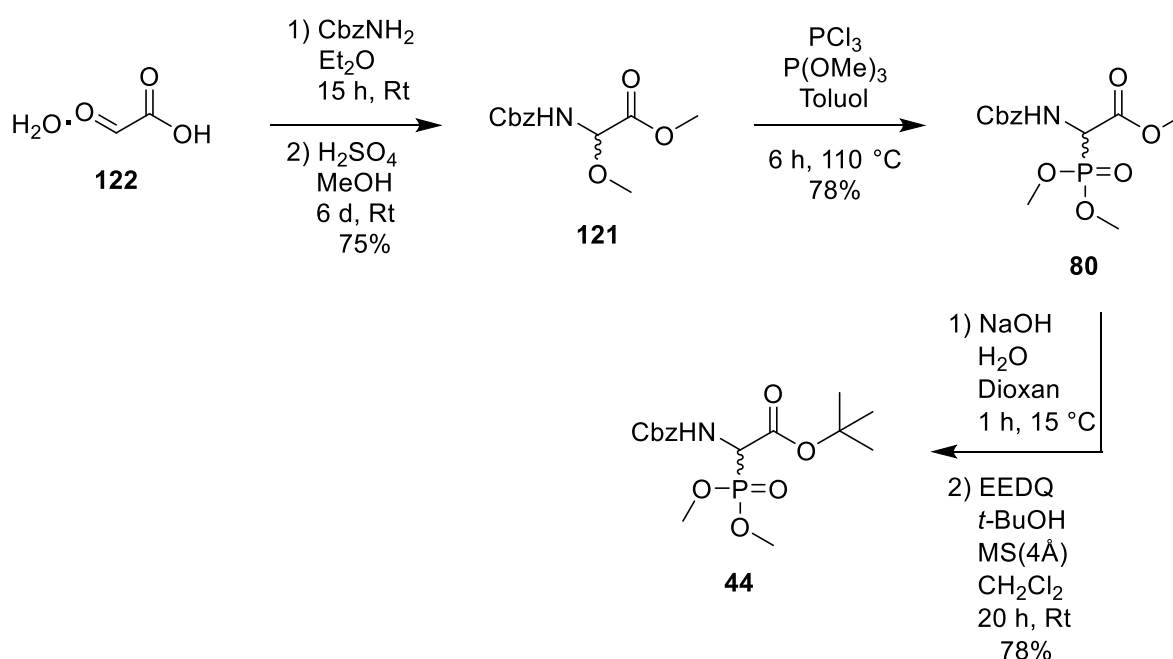


Abb. 4.6 Synthese des *N*-Cbz-geschützten *tert*-Butylester-Phosphonats **44**.

Glyoxylsäure-Monohydrats **122**, hier noch einmal in der Abbildung 4.6 aufgeführt. Das 2-Methoxyglycin-Derivat **121** wurde in Toluol mit Phosphortrichlorid versetzt, 4 h am Rückfluss erhitzt, Trimethylphosphit hinzugegeben und weitere 2 h am Rückfluss gerührt, wobei der Methylester **80** in einer Ausbeute von 78% isoliert wurde. Abschließend konnte das Phosphonat **44** in 78% Ausbeute über zwei Stufen generiert werden. Dabei wurde der Methylester **80** zunächst bei 15 °C basisch mit Natriumhydroxid in Dioxan innerhalb eines Zeitraums von 1 h hydrolysiert. Die entstandene freie Carbonsäure wurde anschließend mit EEDQ in *tert*-Butanol und Dichlormethan als Cosolvens bei Raumtemperatur aktiviert, um die *tert*-Butyl-Schutzgruppe einzuführen. Ausgehend von Glyoxylsäure-Monohydrat **122** konnte somit das *N*-Cbz-geschützte *tert*-Butylester-Phosphonat **44** in einer Gesamtausbeute von 46% über 4 Stufen dargestellt werden (Abb. 4.6).

4.2.2 Synthese des *N*-Cbz-geschützten POM-Ester-Phosphonats **79**

Ausgehend von bereits zuvor synthetisiertem Methylester-Phosphonat **80** konnte das *N*-Cbz-geschützte POM-Ester-Phosphonat **79** in einer zweistufigen Sequenz erhalten werden. Im ersten Schritt wurde analog zur Synthese des Phosphonats **44** (vgl. Kapitel 4.2.1) der Methylester **80** verseift. Anschließend wurde die POM-Gruppe entweder mithilfe von POM-Chlorid (POM-Cl) **111** oder POM-Iodid (POM-I) **112** und *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) in Acetonitril eingeführt.^[159]

Zunächst wurde eine Umsetzung des Verseifungsproduktes **123** mit POM-Cl **111** angestrebt, wobei nach 18 d und säulenchromatographischer Reinigung nur eine Ausbeute von 17% erzielt werden konnte (Abb. 4.7). Dies wurde der schwachen Reaktivität des POM-Cl **111** zugeschrieben, weshalb daraufhin in einem zweiten Versuch das wesentlich reaktivere POM-I **112** eingesetzt wurde. Dieses wurde in äquimolaren Mengen mit der Säure **123** unter Zugabe von DIPEA zur Reaktion gebracht. Dabei verkürzte sich die Reaktionszeit signifikant, wobei

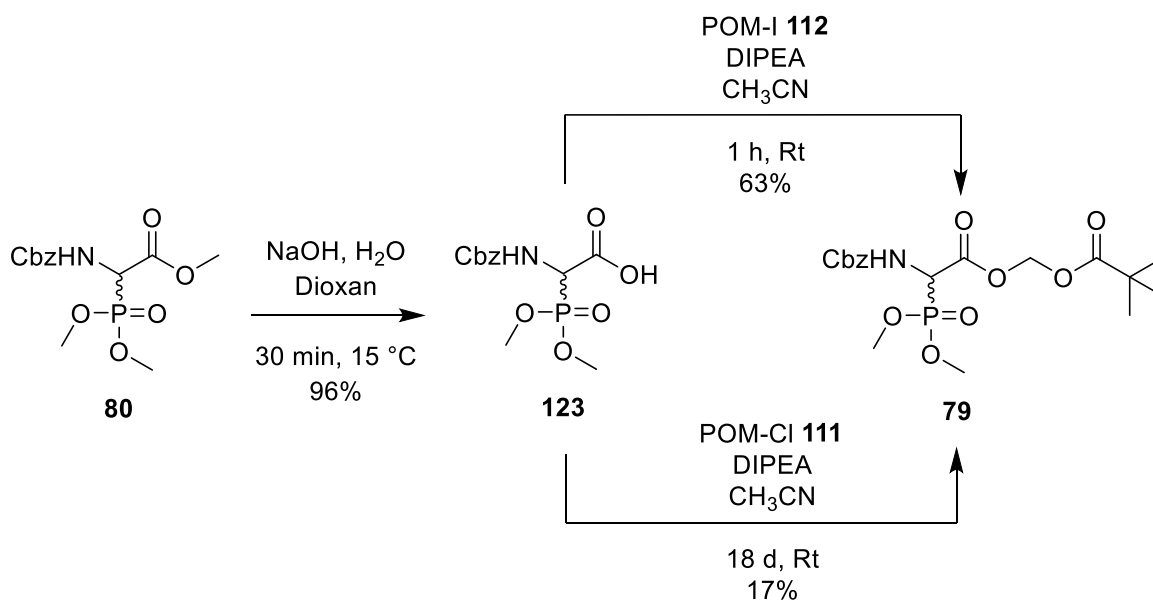


Abb. 4.7 Synthese des *N*-Cbz geschützten POM-Ester-Phosphonats **79**.

nach 2 h eine Ausbeute von 36% erhalten werden konnte. Da noch Reste der eingesetzten Säure **123** vorhanden waren, wurde in einem dritten Versuch mit Überschußen (2.0 Äq.) von POM-I **112** und DIPEA gearbeitet. Nach 1 h konnte ein vollständiger Umsatz beobachtet werden, jedoch war nach der wässrigen Aufarbeitung eine weitere Verbindung zu sehen, die auf eine Weiterreaktion des gewünschten Produktes mit den Resten des POM-I **112** beim Einengen der Reaktionsmischung im Vakuum hinwies. Dies spiegelte sich auch in der geringeren Ausbeute als zuvor von 29% wider. Diesem Problem sollte auf zwei Arten entgegengewirkt werden. In einem weiteren Versuch wurde zunächst am Reaktionsende ein

Überschuss an Ammoniumacetat (5.0 Äq.) hinzugefügt um die Reste des POM-I **112** zu deaktivieren. Dies führte jedoch zu einer Ausbeute von lediglich 13%. Weiterhin wurde in einem letzten Versuch auf eine Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum und eine wässrige Aufarbeitung verzichtet und das Reaktionsgemisch direkt säulenchromatographisch gereinigt, woraus eine verbesserte Ausbeute von 63% resultierte.

Um die Ausbeute weiter zu steigern wurde zudem die Verseifungsreaktion des Methylester-Phosphonats **80** genauer beleuchtet. Dabei konnte herausgefunden werden, dass eine geringe Lösungsmittelmenge an Dioxan der Ausbeute der freien Säure zuträglich war. Wichtiger war jedoch, dass bei der wässrigen Aufarbeitung genauestens auf die korrekte Einstellung des pH-Wertes auf ein leicht saures Milieu geachtet wurde. Somit konnte für die Verseifungsreaktion des Methylesters **80** eine Ausbeute von 96% erzielt werden und das *N*-Cbz-geschützte POM-Ester-Phosphonat **79** in einer Gesamtausbeute von 60% über zwei Stufen dargestellt werden (Abb. 4.7).

4.3 Synthese von L-Leucin-abgeleiteten Aldehyden für die reduktive Aminierung von Nucleosyl-Aminosäuren

Für einen von Ducho und Mitarbeitern etablierten dreiteiligen Ansatz zur stereoselektiven Darstellung von Muraymycinen (vgl. Kapitel 2.5.3 und Kapitel 3)^[79,132] sollte der zweite Teil eine reduktive Aminierung von Nucleosyl-Aminosäuren mit L-Leucin-abgeleiteten Aldehyden sein. Dabei sollte der *N*-Cbz-geschützte Aldehyd **88** für die Synthese aller Muraymycin-Analoga vollständiger Länge eingesetzt werden, da nach *N*-Cbz-Entschützung weitere Bausteine an das primäre Amin angehängt werden konnten. Der *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **78** sollte in reduktiven Aminierungen mit Nucleosyl-Aminosäuren zur Darstellung von neuartigen Muraymycin-Prodrugs verknüpft werden. Mit der Acetylgruppe sollte in verkürzter Form nachgeahmt werden, dass bei den natürlich vorkommenden Muraymycinen weitere Aminosäuren in der Kette folgen.

4.3.1 Synthese des *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **88**

Der *N*-Cbz-geschützte L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **88** wurde in Anlehnung an eine literaturbekannte Synthesesequenz dargestellt (Abb. 4.8).^[119,184] Da das Diethoxopropyl-L-Leucinamid-Derivat **124** bereits in Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho aus L-Leucin **125** über **126** dargestellt worden war, musste nur die letzte Stufe der der Vollständigkeit halber

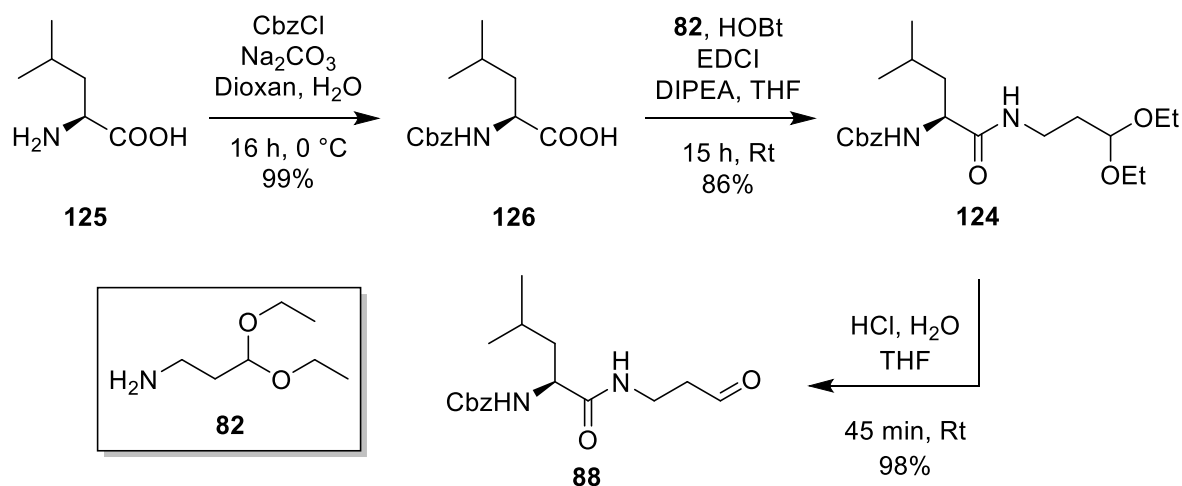


Abb. 4.8 Synthese des *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **88**.

abgebildeten Syntheseroute nachvollzogen werden. Im durchgeführten letzten Schritt der Sequenz wurde das Acetal **124** in einer durch Salzsäure vermittelten Hydrolyse-Reaktion für 45 min bei Raumtemperatur in Tetrahydrofuran umgesetzt. Der *N*-Cbz-geschützte L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **88** wurde dabei in einer exzellenten Ausbeute von 98% erhalten. Eine Lagerung des Aldehyds **88** bei $-26\text{ }^\circ\text{C}$ war problemlos über mehrere Monate möglich.

4.3.2 Synthese des *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **78**

Kommerziell erhältliches *N*-Acetyl-L-Leucin **81** wurde zunächst mit 1-Amino-3,3-diethoxypropan **82** in einer Peptidkupplungsreaktion mit 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), *N*-(3-Dimethylamino-propyl)-*N'*-ethylcarbodiimid Hydrochlorid (EDCI) und *N,N*-Diisopropylethylamin in Tetrahydrofuran umgesetzt.^[119] Nach 15 h bei Raumtemperatur konnte das Acetal **127** in zunächst verunreinigter Form erhalten werden. Bei genauerer

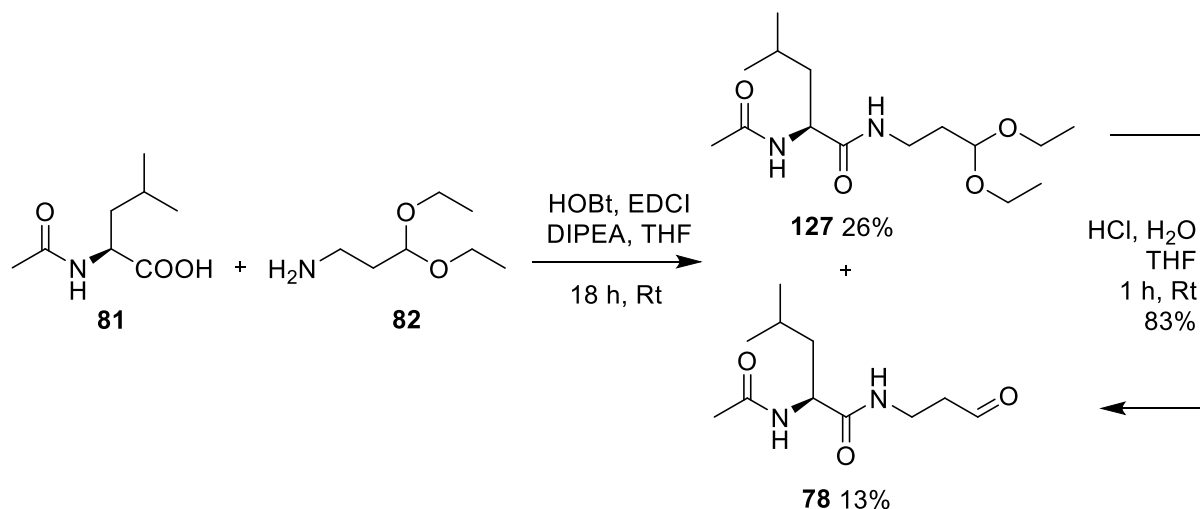


Abb. 4.9 Synthese des *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **78**.

Analyse deuteten NMR-Spektren auf das Vorhandensein von Resten des 1-Amino-3,3-diethoxypropans **82** in der Produktmischung hin. Um diesem Umstand vorzubeugen wurden im Weiteren leichte Überschüsse (1.05 Äq.) des *N*-Acetyl-L-Leucins **81** sowie der Kupplungsreagenzien eingesetzt. Erneut konnte die Zielverbindung **127** nur verunreinigt synthetisiert werden. In diesem Fall wiesen die ¹H-NMR-Spektren jedoch einen signifikanten Aldehyd-Peak auf, was zeigte, dass es sich bei der Verunreinigung um das Zielmolekül der vorliegenden Synthesesequenz, den Aldehyd **78** handelte. Betrachtete man die Aufarbeitung der Peptidkupplung mit einem wässrig sauren Waschschrift, ist dies nicht verwunderlich, sodass auf diese Weise neben den 26% des Acetals **127** auch 13% des *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **78** isoliert werden konnten. Die vermeintlich geringen Ausbeuten für diese Reaktion wurden damit begründet, dass die Acetylgruppe im eingesetzten Substrat **81** im Vergleich zur *N*-Cbz-Schutzgruppe in der Synthese des Aldehyds **88** (vgl. Kapitel 4.3.1) einen starken Polaritätszuwachs zur Folge hatte. Aufgrund dieser Polarität wäre es einerseits denkbar gewesen, dass sich die Reaktivität der eingesetzten Reagenzien änderte, andererseits konnte möglicherweise nicht die gesamte Menge der synthetisierten Verbindung beim Extrahieren aus der wässrigen Phase entfernt werden. Auf eine Optimierung der Synthese wurde jedoch verzichtet, da die erhaltene Substanzmenge für die folgende Stufe ohne weiteres ausreichte. Abschließend wurde das generierte Acetal **127** in einer Salzsäure-vermittelten Hydrolyse-Reaktion^[184] für 1 h bei Raumtemperatur in Tetrahydrofuran umgesetzt, wobei der *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **78** in einer guten Ausbeute von 83% erhalten wurde. Eine Lagerung des Aldehyds **78** bei -26 °C war problemlos über mehrere Monate möglich.

4.4 Synthese von propylierten Aminoribose-Derivaten für die Synthese 6'-*N*- und *N3*-aminoribosylierter Muraymycin-Analoga

Die β-Aminoribose ist in einer Vielzahl von isolierten Muraymycin-Naturstoffen über die 5'-Hydroxy-Funktion an das Muraymycin-Grundgerüst gebunden. 2005 berichteten Ichikawa, Matsuda und Mitarbeiter die Synthese des Ribosyl-Fluorids **15** (Abb. 4.10) als Glycosyl-Donor^[123] zur Einführung dieses Aminoribose-Restes in einer entsprechenden Glycosylierungsreaktion mit der 5'-Hydroxy-Gruppe von geeigneten Nucleosyl-Aminosäure-Bausteinen als Glycosyl-Akzeptoren. Vor dem Hintergrund des erheblichen sterischen Anspruches der acetalischen Isopentyliden-Schutzgruppe erwies sich der Fluorid-Donor **15** zudem als besonders tauglich für S_N1-artige Glycosylierungsreaktionen mit hoher β-Selektivität, was Ichikawa, Matsuda und Mitarbeiter im Zuge weiterer Arbeiten zeigen

konnten.^[124] Dennoch erfordert diese Synthesestrategie glycosylierter Nucleosyl-Aminosäuren eine hohe Anzahl von Syntheseschritten mit teilweise ernüchternden Ausbeuten. Im vorliegenden Projekt sollte die Einführung der Aminoribose synthetisch wesentlich einfacher über das 6'-*N*- (vgl. Kapitel 4.11.1) beziehungsweise das *N*3-Atom (vgl. Kapitel 4.11.2) des Nucleosyl-Aminosäure-Motives zugänglich gemacht werden. Um eine konformationelle Flexibilität dieses Strukturmotives zu gewährleisten, wurde ein Propylrest als Spacer eingeführt und zunächst das Butenylglycosid **β-128** (Abb. 4.11) generiert. Davon ausgehend konnten der Aminoribose-abgeleitete Aldehyd **95** (Abb. 4.11) und das Aminoribose-abgeleitete Tosylat **96** (Abb. 4.12) synthetisiert werden. Ersteres wurde benötigt, um die Aminoribose in 6'-*N*-Position der Nucleosyl-Aminosäure im Rahmen einer reduktiven Aminierung einführen zu können, zweiteres, um eine Verknüpfung mittels Alkylierung an das *N*3 der Nucleobase zu erreichen.

4.4.1 Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds **95**

Zunächst wurde für die Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds **95** das Ribosyl-Fluorid **15** einer publizierten Strategie folgend synthetisiert (Abb. 4.10).^[123] Dabei wurden die Hydroxy-Funktionen in 2- und 3-Position von D-Ribose **103** mit katalytischen Mengen Benzolsulfonsäure und 3-Pentanon, welches zugleich als Lösungsmittel diente, als Acetal geschützt. Als Cosolvens wurde aufgrund der schlechten Löslichkeit von D-Ribose **103** *N,N*-Dimethylformamid hinzugegeben. Das bei der Reaktion entstehende Wasser wurde durch Zugabe von zuvor sorgfältig getrocknetem Magnesiumsulfat aus dem Gleichgewicht entfernt. Nach einer Reaktionszeit von 12 d bei Raumtemperatur konnte das Acetal **129** in einer moderaten Ausbeute von 44% erhalten werden. Eine längere Reaktionszeit war der Ausbeute zuträglich, sodass die Ausbeute nach 19 d auf 57% gesteigert werden konnte. Angesichts der eingesetzten kommerziell erhältlichen Chemikalien und des Umstandes, dass es sich bei der Reaktion um eine Gleichgewichtsreaktion handelte, wurde auf eine weitere Optimierung der Reaktion verzichtet, da die isolierten Substanzmengen für die Folgestufen ausreichend waren. Im nächsten Schritt erfolgte die Einführung einer Azid-Funktion in 5-Position. Dazu wurde das dargestellte Acetal **129** in Pyridin als Lösungsmittel mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid versetzt und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei wurde die Hydroxy-Funktion in 5-Position in das entsprechende Tosylat und damit in eine erheblich bessere Abgangsgruppe überführt. Ohne weitere Reinigung wurde das resultierende Öl direkt in der folgenden Substitutionsreaktion in *N,N*-Dimethylformamid mit Natriumazid versetzt und für 16 h auf

50 °C erwärmt. Auf diese Weise konnte das Azid **130** in einer Ausbeute von 73% über zwei Stufen erhalten werden. An dieser Stelle muss jedoch festgehalten werden, dass die Entstehung des cyclischen Nebenproduktes **131** nie ganz unterbunden werden konnte. Dabei konnte dieses Nebenproduktes **131** je nach Ansatzgröße und Temperatur der zweiten Stufe der Reaktion in unterschiedlichen Verhältnissen zum Produkt **130**, vereinzelt sogar als saubere Hauptkomponente, erhalten werden. Inwiefern die verschiedenen Faktoren der Tosylatbildung, der wässrig sauren Aufarbeitung und der anschließenden Substitutionsreaktion mit dem Azid bei erhöhter Temperatur im Zusammenspiel die Bildung des cyclischen Nebenproduktes begünstigen konnte nicht abschließend geklärt werden. Eine Generierung des benötigten Azids **130** in ausreichend großen Mengen konnte jedoch mit der dargestellten Reaktionsführung problemlos sichergestellt werden (Abb. 4.10).

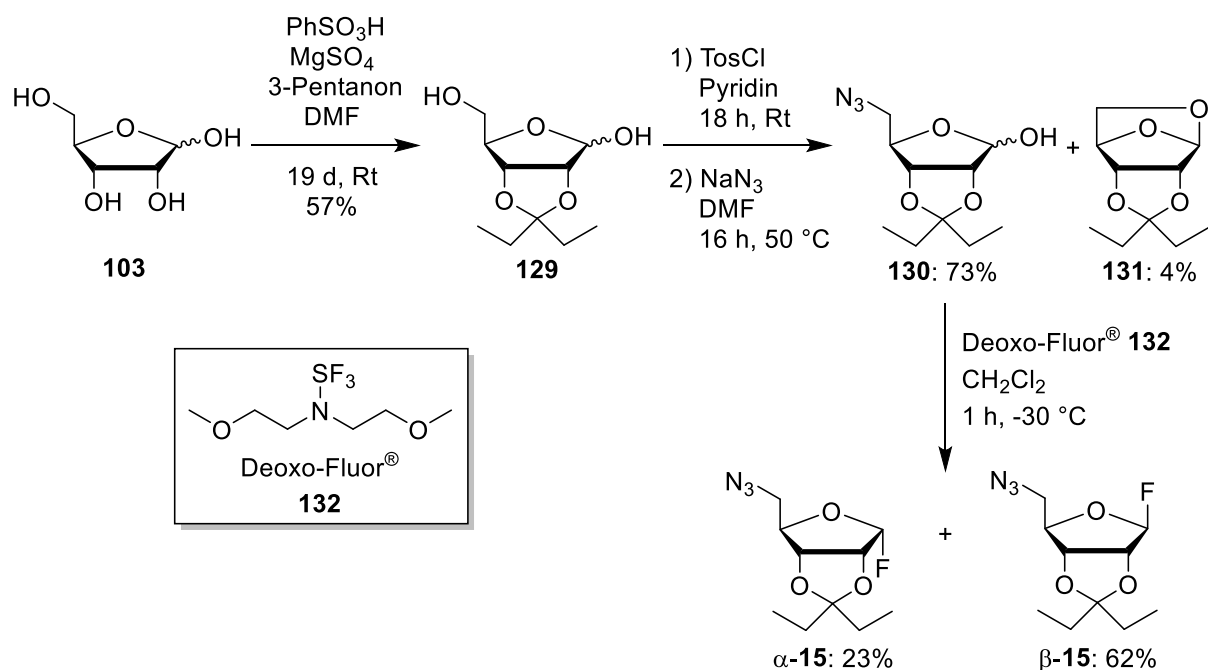


Abb. 4.10 Synthese der Ribosyl-Fluoride α -15 und β -15.

Abschließend wurde das Azid **130** mit Bis-(2-methoxyethyl)-aminoschwefeltrifluorid versetzt, um das entsprechende Ribosyl-Fluorid β -15 zu erhalten. Das eingesetzte Reagenz ist unter dem Handelsnamen Deoxo-Fluor[®] **132** als thermisch stabilere Variante des normalerweise verwendeten Diethylaminoschwefeltrifluorids (DAST) kommerziell erhältlich. Nach einer Reaktionszeit von 1 h bei -30 °C in Dichlormethan konnte neben dem gewünschten β -Ribosyl-Fluorid β -15 in einer Ausbeute von 62% auch das entsprechende α -Anomer α -15 in einer Ausbeute von 23% isoliert werden. Als eindeutiger Beleg für die Zuordnung der anomeren Konfiguration konnte die Kopplungskonstante der Protonen in 1- und 2-Position im ^1H -NMR-Spektrum der beiden Substanzen verwendet werden. Während beim β -Anomer β -15 für das anomere Proton ein Dublett aufgrund der $^2J_{\text{HF}}$ -Kopplung

beobachtet wurde, konnte dieses Signal im Spektrum des α -Anomers α -**15** eindeutig als Dublett vom Dublett aufgrund der $^2J_{\text{HF}}$ -Kopplung und der $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung identifiziert werden.^[123]

Im Folgenden sollte das synthetisierte Ribosyl-Fluorid β -**15** als Glycosyl-Donor mit 3-Buten-1-ol **133** als Glycosyl-Akzeptor umgesetzt werden. Die von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern beschriebene β -Glycosylierung mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$)^[124] sollte auch hier das gewünschte β -konfigurierte Olefin β -**128** als Hauptprodukt liefern (Abb. 4.11).

In vorangegangenen Arbeiten konnte die Synthese von β -**128** bereits optimiert werden.^[173] Dabei wurde das Fluorid β -**15** mit dem Alkohol **133** (1.5 Äq.) und Molekularsieb (4 Å) vorgelegt und bei 0 °C mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) (1.5 Äq.) für 1.5 h gerührt. Mit dieser Methode konnte das gewünschte Produkt β -**128** in einer hervorragenden β -Selektivität und in einer guten Ausbeute von 65% erhalten werden. Die Entstehung des α -Anomers α -**128** konnte nicht beobachtet werden.

Um den Aminoribose-abgeleiteten Aldehyd **95** für reduktive Aminierungen mit der Nucleosid-Kernstruktur darzustellen, wurde im Folgenden eine Staudinger-Reduktion mit anschließender *N*-Boc-Schützung durchgeführt (Abb. 4.11).^[124,185] Das Butenylglycosid β -**128** wurde hierfür in einer Mischung aus Toluol und Tetrahydrofuran (1:1) mit Triphenylphosphan (3.0 Äq.) und Wasser (50 Äq.) versetzt und 13 h auf 50 °C erwärmt. Unter diesen Bedingungen wurde das primäre Amin generiert, das im Eintopfverfahren bei Raumtemperatur durch die anschließende Zugabe von Di-*tert*-butyldicarbonat (2.0 Äq.) und Natriumhydrogencarbonat (2.0 Äq.) unmittelbar weiter umgesetzt wurde. Auf diese Weise

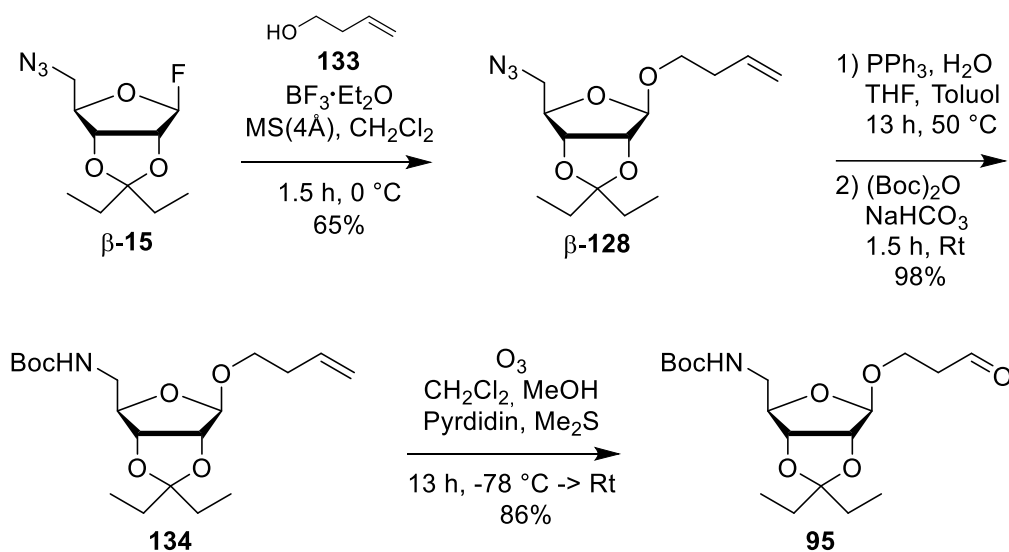


Abb. 4.11 Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds **95**.

konnte das *N*-Boc-geschützte Olefin **134** in einer exzellenten Ausbeute von 98% isoliert werden.

Einen Schlüsselschritt der Route zur Synthese des Aldehyds **95** sollte eine abschließende Ozonolyse darstellen.^[186] Dazu wurde das Olefin **134** in einer Mischung aus Methanol und Dichlormethan gelöst und mit Pyridin versetzt. Anschließend wurde unter Rühren bei -78 °C für 1 h Ozon durch die Lösung geleitet, bis die Reaktionsmischung gesättigt war, was anhand der charakteristischen Blaufärbung der Lösung festzustellen war. Es wurde Argon eingeleitet, bis die Lösung wieder farblos war. Abschließend wurde Dimethylsulfid hinzugegeben, um das resultierende Sekundärozonid reduktiv zu spalten und den entstandenen Aldehyd vor weiterer Oxidation zu schützen. Unter Rühren wurde diese Reaktionsmischung über einen Zeitraum von 12 h langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Es zeigte sich nachfolgend, dass die Zielverbindung **95** eine hinreichende Stabilität für eine säulenchromatographische Reinigung aufwies und so in einer sehr guten Ausbeute von 86% erhalten werden konnte (Abb. 4.11). Ausgehend von D-Ribose **103** konnte somit der Aminoribose-abgeleitete Aldehyd **95** in einer Gesamtausbeute von 14% über 7 Stufen erhalten werden.

4.4.2 Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Tosylats **96**

Als geeignetes Alkylierungs-Reagenz für die Einführung der Aminoribose über die *N*3-Position der Nucleobase wurde das Tosylat **96** dargestellt. In diesem Zusammenhang wurde der Aldehyd **95** als Rohprodukt der Ozonolyse von Olefin **134** (vgl. Kapitel 4.4.1) unverzüglich mit Natriumborhydrid bei 0 °C in Methanol versetzt um den entstandenen

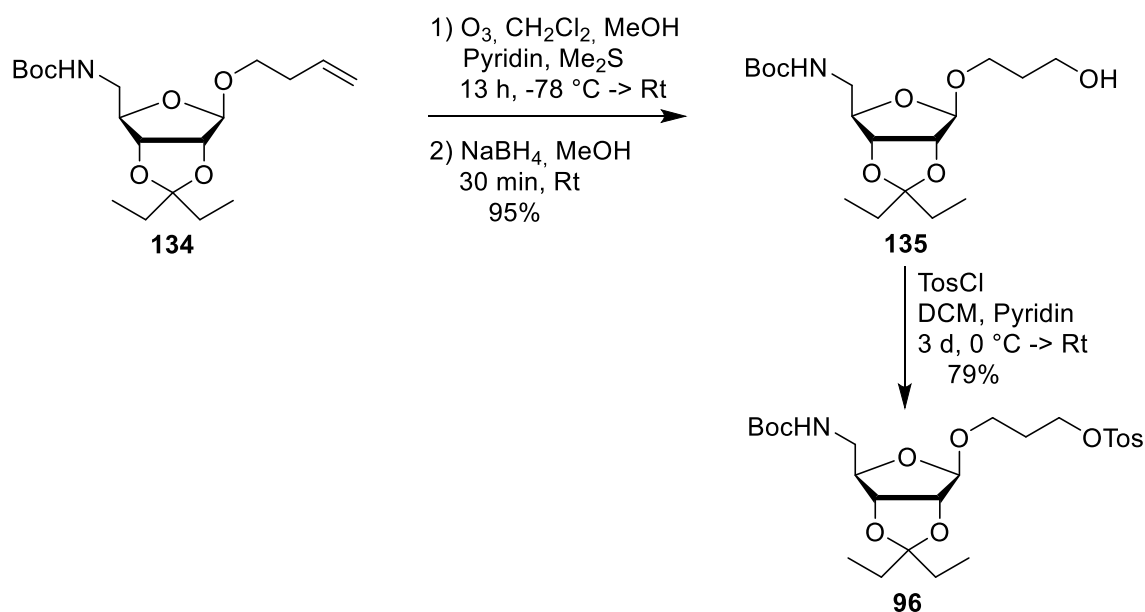


Abb. 4.12 Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Tosylats **96**.

Aldehyd direkt zum Alkohol zu reduzieren. Nach 30 min konnte auf diesem Wege der Alkohol **135** in einer sehr guten Ausbeute von 95% über zwei Stufen erhalten werden (Abb. 4.12).^[186]

Zur Überführung der Hydroxy-Funktion des primären Alkohols **135** in eine geeignete Abgangsgruppe wurde dieser zum Tosylat **96** umgesetzt.^[187] Dazu wurde das Aminoribose-Derivat **135** in einem abschließenden Schritt mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (TosCl) und Pyridin als Base in Dichlormethan bei 0 °C zur Reaktion gebracht. Die Reaktionsmischung wurde über einen Zeitraum von 2 h auf Raumtemperatur erwärmt, weitere 3 d gerührt und das Aminoribose-abgeleitete Tosylat **96** in einer Ausbeute von 79% erhalten (Abb. 4.12). Ausgehend vom Olefin **134** konnte somit das Tosylat **96** in einer Gesamtausbeute von 75% über drei Stufen erhalten werden.

4.5 Synthese von Aminoribose-Derivaten für die Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion von Nucleosyl-Aminosäuren

Für die Glycosylierung von (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren zu naturstoffanalogen 5'-aminoribosylierten Muraymycinen (vgl. Kapitel 4.12.3) sollte in vorliegender Arbeit eine neue Strategie entwickelt werden (vgl. Kapitel 4.12.1). Zuvor war in der Arbeitsgruppe Ducho bereits die von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern entwickelte und etablierte Glycosylierungsmethode angewendet worden.^[124] Mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (BF₃·Et₂O) als stark Lewis-saurem Aktivator führte diese Methode bereits für die Funktionalisierung von Glycosiden mit primären Alkoholen zum Erfolg (vgl. Kapitel 4.4.1 und Kapitel 4.5.4). Für das vorliegende Syntheseproblem, basierend auf dem in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Schutzgruppenmuster mit *tert*-Butyldimethylsilyl-(TBDMS)- und *tert*-Butylester-Schutzgruppen, zeigte sich diese Methode jedoch als zu harsch und damit ungeeignet und resultierte in unbrauchbar geringen Ausbeuten. Eine Glycosylierungsreaktion sollte einerseits mild genug sein, um sich mit sauer spaltbaren Schutzgruppen in Glycosyl-Donor und Glycosyl-Akzeptor kombinieren zu lassen. Andererseits musste eine neue Strategie auf die Eignung im Zusammenwirken mit dem sterischen Anspruch des sekundären Alkohols der Nucleosyl-Aminosäure als Glycosyl-Akzeptor überprüft werden. Auf diesem Wege wurden verschiedene Methoden mit verschiedenen Glycosyl-Donoren untersucht, deren Synthesen im Folgenden dargestellt sind.

4.5.1 Synthese des acetylierten Glycosyl-Donors 136

Die acetylierte-D-Ribose **136**, die für eine Glycosylierungsstrategie, welche von Gravier-Pelletier, Ginisty und Le Merrer beschreiben wurde,^[161] verwendet werden sollte (vgl. Kapitel 4.12.1.1), wurde ausgehend von Azid **130** dargestellt. Hierzu wurde dieses mit 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) und Essigsäureanhydrid in abs. Pyridin umgesetzt

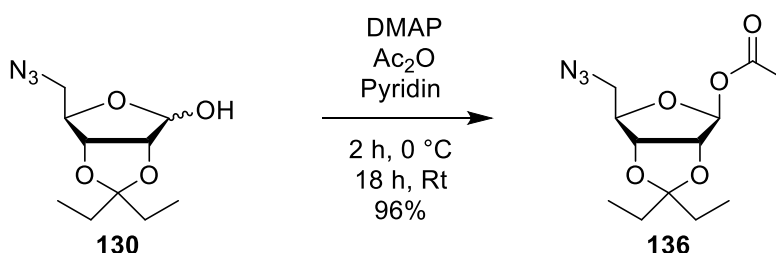


Abb. 4.13 Synthese des acetylierten Glycosyl-Donors **136**.

(Abb. 4.13). Nachdem die Reaktionsmischung 2 h bei 0 °C und anschließend für weitere 18 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, konnte ohne wässrige Aufarbeitung eine Ausbeute von 96% erzielt werden. Dass es sich bei der synthetisierten Verbindung zweifelsfrei um die β -konfigurierte Verbindung handelte, konnte anhand des ^1H -NMR-Spektrums eindeutig belegt werden, da das Proton am anomeren Zentrum ein Singulett zeigte und somit keine Kopplung zum benachbarten, in einem nahezu 90° Winkel dazu stehenden, Proton in 2-Position aufwies.

4.5.2 Synthese des Trichloracetimidats 137

Für eine Glycosylierungsmethode mit Trichloracetimidaten als Glycosyl-Donoren (vgl. Kapitel 4.12.1.2), wurde die Donorsynthese von Azid **130** aus begonnen. In der ersten Generation war eine Aktivierung der Alkoholfunktion mit der starken Base Natriumhydrid von R. R. Schmidt etabliert worden.^[162] Später wurde eine wesentlich mildere Aktivierung mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) **107** entwickelt, die sich auch für das vorliegende Syntheseproblem als geeignet herausstellte.^[163] Dabei wurde das Azid **130** bei Raumtemperatur mit Trichloracetonitril in Anwesenheit der Base DBU **107** zur Reaktion gebracht (Abb. 4.14). Ohne weitere Aufarbeitung wurde das Trichloracetimidat **137** in einer sehr guten Ausbeute von 92% erhalten. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels trat neben dem gewünschten Produkt jedoch auch ein schwarz-brauner, hochviskoser, unlöslicher Rückstand auf, der die säulenchromatographische Reinigung stark erschwert. Aufgrund einer generellen Instabilität von Trichloracetimidaten sollte zudem auf eine

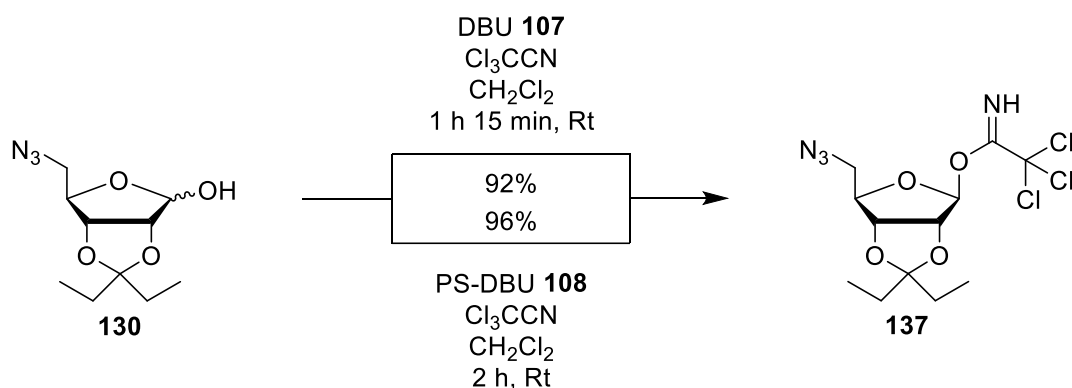


Abb. 4.14 Synthese des Trichloracetimidats **137**.

säulenchromatographische Reinigung verzichtet werden, auch wenn diese für das Trichloracetimidat **137** möglich war, wenn sehr zügig gearbeitet wurde. Aus diesem Grund wurde eine von Chiara und Mitarbeitern entwickelte Variante^[164] angewendet, bei der Polymer-Supported 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (PS-DBU) **108**^[179] zum Einsatz kam. Dieses ließ sich bei der Aufarbeitung abfiltrieren und das gewünschte Trichloracetimidat **137** konnte in exzellenter Ausbeute von 96% isoliert werden. Auch hier zeigte das ^1H -NMR-Spektrum ein Singulett für das Proton am anomeren Zentrum, was bedeutete, dass ausschließlich das β -Anomer gebildet worden war.

4.5.3 Synthese der Thioglycoside α -**138** und β -**138**

Eine weitere milde Möglichkeit zur Glycosylierung von Alkoholen stellte die Thioglycosidmethode dar (vgl. Kapitel 4.12.1.3), wobei ein entsprechendes Vorläuferglycosid mithilfe von Ethanthiol in eine reaktivere Donor-Spezies überführt wurde. Unabhängig von der Darstellungsweise wurden bei jeder Reaktion sowohl das α - als auch das β -konfigurierte Thioglycosid gebildet. Beide Anomere konnten getrennt und unabhängig voneinander charakterisiert werden. Vor dem Hintergrund des erheblichen sterischen Anspruches der acetalischen Isopentyliden-Schutzgruppe spielte das Anomerenverhältnis für die folgende $\text{S}_{\text{N}}1$ -artige Glycosylierungsreaktion jedoch keine Rolle, da diese mit hoher β -Selektivität verlaufen sollte, was Ichikawa, Matsuda und Mitarbeiter in ähnlichen Umsetzungen zeigen konnten.^[124]

Für die Synthese der Thioglycoside α -**138** und β -**138** wurde zunächst in Anlehnung an eine literaturbekannte Strategie von Gelin und Mitarbeitern^[166] vom acetylierten Glycosyl-Donor **136** ausgegangen, der mit Ethanthiol (1.5 Äq.) und Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) im Überschuss (3.0 Äq.) bei 0 °C umgesetzt wurde. Nach 18 h Rühren bei Raumtemperatur konnte jedoch nur ein Gemisch aus nicht näher identifizierbaren

Zersetzungsprodukten isoliert werden. Ein weiterer Versuch mit wesentlich verkürzter Reaktionszeit (1.5 h), weniger $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.5 Äq.) und konstanter Reaktionstemperatur von 0 °C führte zu einer ernüchternden Ausbeute von 13% des β -Anomers β -**138** (Abb. 4.15). Dabei wurde noch eine kleine Menge des Eduktes **136** zurückgewonnen, weshalb diese Variante verworfen wurde.

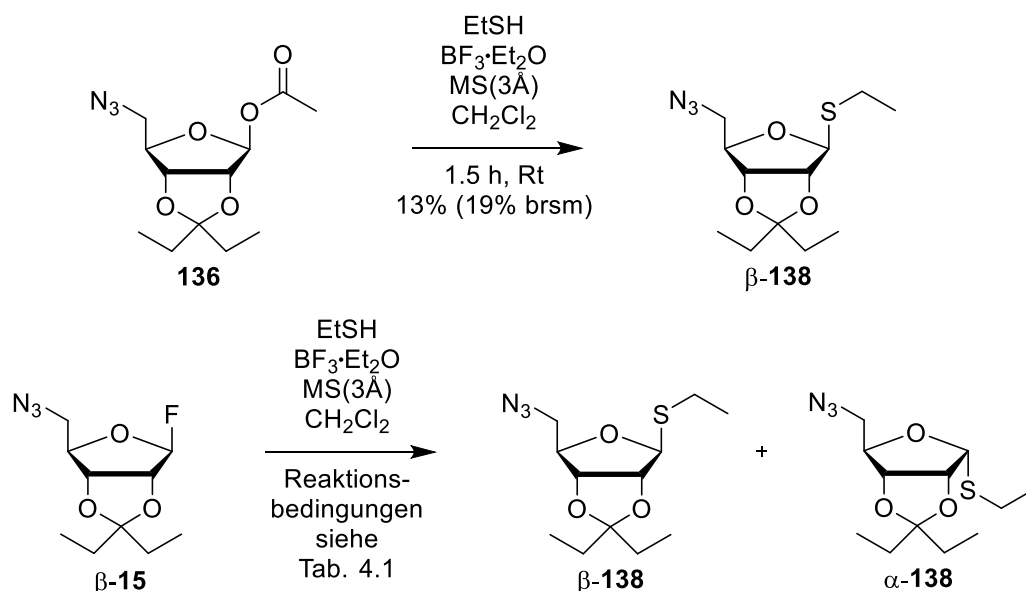


Abb. 4.15 Darstellung der Thioglycoside β -**138** und α -**138**.

Tab. 4.1 Reaktionsbedingungen zur Synthese der Thioglycoside α -**138** und β -**138**

Eintrag	Äq. $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	Äq. EtSH	Temperatur	Zeit	Aufarbeitung	Ausbeute
1	1.5	1.5	0 °C	2.5 h	wässrig	34% β , 22% α
2	1.0	1.3	0 °C	1.5 h	wässrig	34% β , 10% α
3	1.0	1.5	0 °C	1.5 h	keine	26% β , 20% α
4	0.9, 0.1	1.2	-10 °C	1.5 h	wässrig	29% β , 11% α
5	0.2, 0.2, 0.2, 0.2, 0.2	1.5	0 °C	4 h	wässrig	34% β , 30% α

Da Transformationen zu Butenyl- und Pentenylglycosiden ausgehend vom Ribosyl-Fluorid β -**15** mit modifizierten Bedingungen der von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern entwickelten Methode^[124] in vorliegender Arbeit bereits zu guten Erfolgen geführt hatten (vgl. Kapitel 4.4.1 und Kapitel 4.5.4), sollten diese Bedingungen auch an vorliegendem Syntheseproblem getestet werden (Abb. 4.15). Dazu wurde das Fluorid β -**15** zunächst mit Ethanthiol (1.5 Äq.) und $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.5 Äq.) für 2.5 h bei 0 °C umgesetzt und

vielversprechende aber optimierbare Ausbeuten von 34% für β -**138** sowie 22% für α -**138** erhalten (Tab. 4.1, Eintrag 1).

Da vermutet wurde, dass ein Überschuss der starken Lewis-Säure $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ auf die Dauer zu Zersetzung führte, wurde eine äquimolare Menge des Aktivators gewählt, sowie die Reaktionszeit auf 1.5 h verkürzt. Dabei konnte jedoch nur eine im α -Anomer α -**138** verschlechterte Ausbeute von 10% erhalten werden (Tab. 4.1, Eintrag 2).

Unter Beibehaltung der verringerten Menge an $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, der Temperatur und der Reaktionszeit wurde der Einfluss der wässrigen Aufarbeitung untersucht, da vermutet wurde, dass trotz Deaktivierung des $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung ein basisch wässriger Aufarbeitungsschritt einen möglichen Zerfall des aktivierten, instabilen Thioglycosids bewirken könnte. Deshalb wurde unter gleichbleibender Reaktionsführung die Reaktionsmischung direkt säulenchromatographisch gereinigt, was jedoch zu einem weiteren Ausbeuteverlust führte (β -**138**: 26%, α -**138**: 20%; Tab. 4.1, Eintrag 3), was das Deaktivieren von nicht abreagierten Resten des $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ notwendig erscheinen ließ.

In einem vierten Versuch wurde somit erneut wässrig aufgearbeitet die Reaktionstemperatur noch einmal auf $-10\text{ }^\circ\text{C}$ variiert und zunächst eine substöchiometrische Menge an $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.9 Äq.) eingesetzt. Dabei konnte festgestellt werden, dass eine mindestens äquimolare Menge des Aktivators gebraucht wurde. Erneut führte diese Variante jedoch zu einer weiteren Verschlechterung der Ausbeute hin zu 29% für β -**138** und 11% für α -**138** (Tab. 4.1, Eintrag 4).

Zuletzt wurde vermutet, dass nicht sofort die ganze zugegebene Menge an $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in der gewünschten Reaktion abreagierte und auch bei tiefen Temperaturen von $-10\text{ }^\circ\text{C}$ für Zersetzung während der Reaktion sorgte. Daher führte eine über eine Reaktionszeit von 4 h kontrollierte Zugabe des $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Portionen bis zu insgesamt 1.0 Äq. bei einer Temperatur von $0\text{ }^\circ\text{C}$ zur optimierten Ausbeute der beiden Thioglycoside von 34% für β -**138** und 30% für α -**138** (Tab. 4.1, Eintrag 5). Vor dem Hintergrund des zeitintensiven Screenings der Reaktionsbedingungen für die Generierung der aktivierten, instabilen Verbindungen und aufgrund ausreichender synthetisierter Substanzmengen wurde dies als ausreichend erachtet.

4.5.4 Synthese der Pentenylglycoside α -**139** und β -**139**

Eine weitere Glycosylierungsmethode sah die Verknüpfung der Aminoribose mit dem Uridin-Grundgerüst mithilfe von Pentenylglycosiden vor (vgl. Kapitel 4.12.1.4). Auch in diesem Fall wurde bei der Generierung des Pentenylglycosides die Bildung beider Anomere beobachtet.

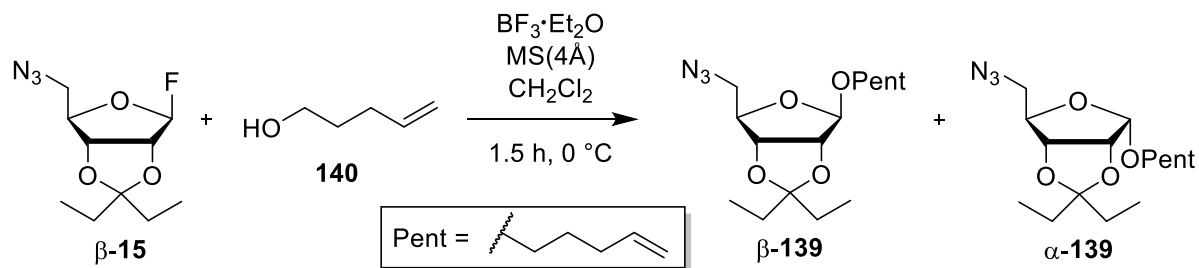


Abb. 4.16 Synthese der Pentenylglycoside 139.

Wie beim Butenylglycosid β -128 (vgl. Kapitel 4.4.1) und bei den Thioglycosiden α -138 und β -138 (vgl. Kapitel 4.5.3) kam auch hier die bewährte Umsetzung des Ribosyl-Fluorids β -15 mit einem entsprechenden Alkohol, in diesem Fall dem 4-Penten-1-ol **140**, zum Einsatz.^[124] Zu einer Lösung der Edukte in Dichlormethan wurden bei 0°C äquimolare Mengen Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) gegeben. Da nach 45 min noch Eduktreste zu detektieren waren, wurde die Zugabe von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.25 Äq.) zweimal nach jeweils 15 min wiederholt. Auch in weiteren Versuchen zeigte sich, dass ähnlich wie beim Butenylglycosid β -128 ein Überschuss von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.5 Äq.) der Ausbeute zuträglich war. Auf diese Weise konnte das β -Pentenylglycosid β -139 in einer guten Ausbeute von 70% und das α -Pentenylglycosid α -139 als Minderkomponente mit 6% Ausbeute isoliert werden (Abb. 4.16). Wie ein Vergleich zur Synthese der Thioglycoside zeigt, belegte dieses Ergebnis noch einmal die gute β -Selektivität der Glycosylierungsreaktion durch die sterisch anspruchsvolle acetalische Isopentyliden-Schutzgruppe des Glycosyl-Donors β -15, in Verbindung mit größer werdenden Glycosyl-Akzeptoren.

4.6 Synthese von Harnstoffdipeptiden für die Peptidkupplung zu Muraymycin-Analoga mit vollständigem Grundgerüst

Der dritte Teil eines von Ducho und Mitarbeitern etablierten dreiteiligen Ansatzes zur stereoselektiven Darstellung von Muraymycin-Analoga (vgl. Kapitel 2.5.3 und Kapitel 3)^[79,132] sollte eine Peptidkupplung von L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren mit Harnstoffdipeptiden sein. Die naturstoffanalogen Muraymycine weisen eine Aminosäure-Sequenz aus L-Valin, Epicapreomycinidin und L-Leucin, beziehungsweise (3*S*)-3-Hydroxy-L-leucin oder mit Fettsäuren verestertem (3*S*)-3-Hydroxy-L-leucin auf. Dabei liegt ein Harnstoffmotiv vor, sodass sich die Orientierung zwischen L-Valin und dem nicht-proteinogenen Epicapreomycinidin umkehrt. In Vorarbeiten zu Harnstoffpeptiden in der Arbeitsgruppe Ducho waren bereits das synthetisch herausfordernde Epicapreomycinidin durch

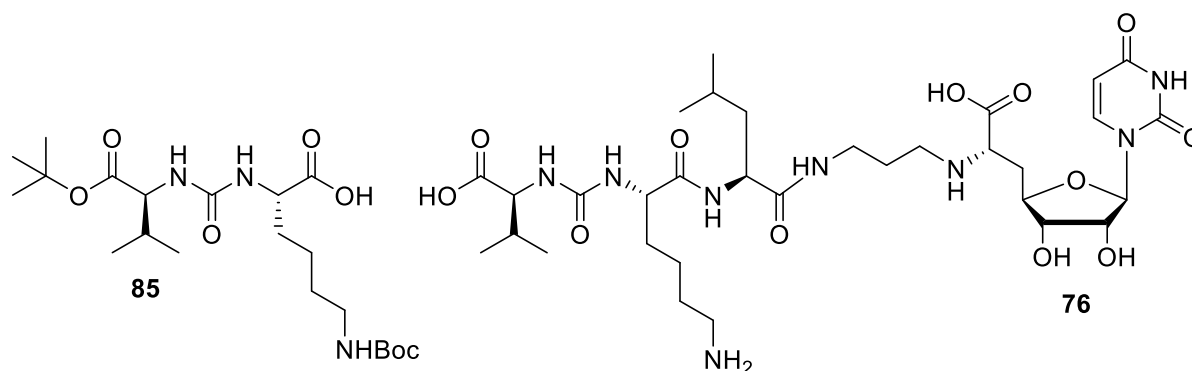


Abb. 4.17 Das Harnstoffdipeptid **85** und die 5'-Desoxy-Muraymycin-Referenz **76**.

Aminosäuren wie zum Beispiel L-Ornithin, L-Lysin oder L-Arginin ersetzt worden.^[188,189] In der Arbeitsgruppe Ducho zeigte sich weiterhin, dass auch L-Lysin-haltige Muraymycin-Analoga einerseits gute inhibitorische Aktivitäten aufweisen (IC_{50} (**76**) = $2.5 \pm 0.6 \mu M$, *MraY* aus *S. aureus*) und es andererseits während der Synthese der Harnstoffdipeptide nicht zu einer Epimerisierung kam, wie es beim L-Ornithin und L-Arginin der Fall war.^[188,189] In vorliegender Arbeit wurden daher alle synthetisierten Harnstoffdipeptide, deren Synthesen im Folgenden ausführlich dargelegt sind, von einer L-Valin-, L-Lysin-Kombination abgeleitet. Das an der Säurefunktion des L-Valin *tert*-Butylester-geschützte Harnstoffdipeptid **85** wurde für die Synthese der aminoribosylierten Muraymycin-Analoga und die nicht aminoribosylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Referenzverbindung **76** eingesetzt (Abb. 4.17) und durch Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellt, weshalb die Synthese hier nicht aufgeführt wird.^[127,188]

4.6.1 Synthese des POM-Ester-Harnstoffdipeptids **83**

Für die Pivaloyloxymethyl-(POM)-haltigen Prodrugs sollte neben der Einführung des Esterase-spaltbaren Motives über das entsprechende *N*-Cbz-geschützte POM-Ester-Phosphonat **79** (vgl. Kapitel 4.2.2) diese auch über das entsprechende POM-Ester-Harnstoffdipeptid möglich gemacht werden. Auf diese Weise sollten verschieden variierte POM-Ester Muraymycin-Prodrugs generiert werden (vgl. Kapitel 4.10).

4.6.1.1 Synthese der Thiocarbamate **141** und **142** für die Harnstoffkupplung

Für die Harnstoffkupplung zwischen den beiden Aminosäuren L-Valin und L-Lysin sind verschiedene Methoden publiziert.^[118,126,127,131] Die Kupplung wurde im Folgenden durch von L-Valin abgeleitete Thiocarbamate zugänglich gemacht.^[127]

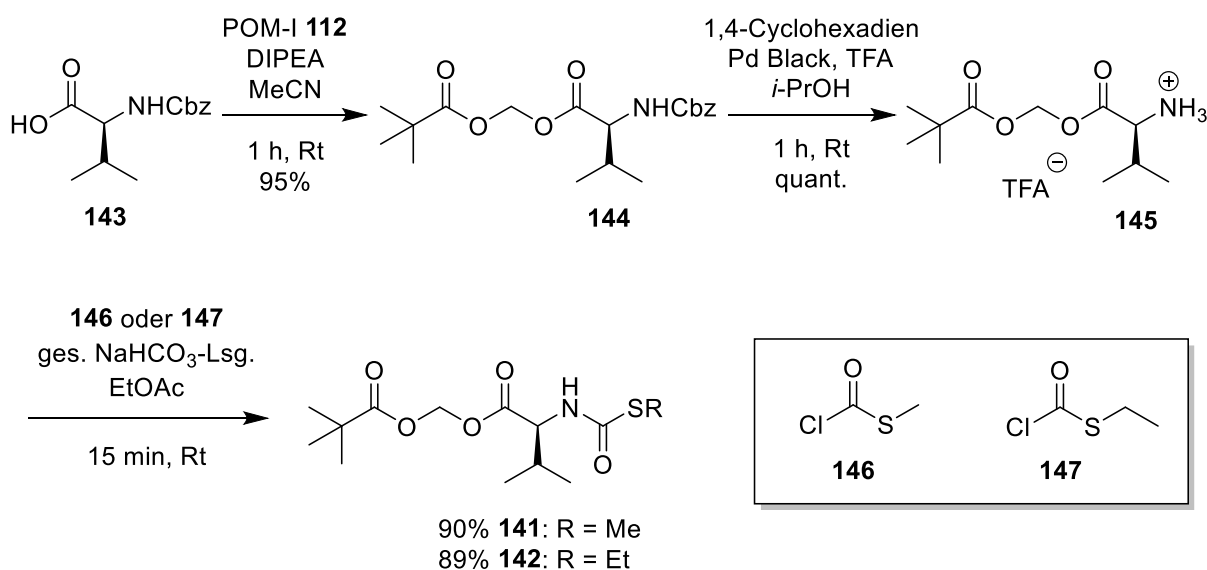


Abb. 4.18 Synthese der *S*-Alkylthiocarbamate **141** und **142** für die Harnstoffkupplung.

Zur Synthese dieser Verbindungen wurde von kommerziell erhältlichem *N*-Cbz-*L*-Valin **143** ausgegangen, welches in Acetonitril mit POM-I **112** in Anwesenheit von *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) umgesetzt wurde. Durch die Anfälligkeit des POM-I **112** für Zerfall und Radikalbildung wurde zudem unter Lichtausschluss gearbeitet. Nach 1.5 h konnte der *N*-Cbz-*L*-Valin-POM-ester **144** in sehr guter Ausbeute von 95% erhalten werden (Abb. 4.18). Die Reaktionsbedingungen der anschließenden hydrogenolytischen *N*-Cbz-Entschützung wurden im Laufe vorliegender Arbeit modifiziert (vgl. Kapitel 4.8.1.1). Es wurden 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) mit Palladium Black und Trifluoressigsäure (TFA) (1.0 Äq.) in *iso*-Propanol genutzt und über 45 min in quantitativer Ausbeute das *L*-Valin-POM-ester TFA-Salz **145** generiert. Die Strategie, das freie Amin als TFA-Salz zu maskieren, wurde bereits zuvor entwickelt (vgl. Kapitel 4.8.1.2), nachdem festgestellt wurde, dass ein primäres Amin in Kombination mit einer POM-Gruppe im Molekül zu Nebenreaktionen und Zersetzung führten. Aus TFA-Salz **145** konnten anschließend zwei verschiedene Thiocarbamate, der *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-valin-POM-ester **141** und der *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-POM-ester **142**, generiert werden (Abb. 4.18). Für ersteres wurde das TFA-Salz **145** in einem Gemisch aus ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und Ethylacetat gelöst und mit dem hydrolyseempfindlichen Methylchlorthioformiat **146** umgesetzt. Ohne weitere Reinigung konnte der relativ instabile *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-valin-POM-ester **141** in sehr guter Ausbeute von 90% erhalten werden. Auf analoge Weise wurde der *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-POM-ester **142** in 89% Ausbeute dargestellt, wobei der Vorteil der zweiten Variante darin lag, dass weniger empfindliches Ethylchlorthioformiat **147** verwendet wurde, was zu einer größeren Stabilität

des generierten Thiocarbamates **142** führte. Zudem war **147** kommerziell leichter verfügbar als das Methylderivat **146**.

4.6.1.2 Synthese der L-Lysin-Derivate **148** und **149** für die Harnstoffkupplung

Um die generierten Thiocarbamate zu einem Harnstoff-Motiv koppeln zu können, wurden entsprechende L-Lysin-Derivate als primäre Amine mit *N*-Boc-geschützter Seitenkette und orthogonal spaltbarer Säureschutzgruppe generiert. Daraus sollte später gezielt das Harnstoffdipeptid als freie Säure für die Peptidkupplung zu Muraymycin-Analoga dargestellt werden. In der Arbeitsgruppe Ducho war bereits eine Variante mit der orthogonal spaltbaren TMSE-Schutzgruppe etabliert.^[188] Dabei konnte auf den *N*-Cbz-L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-TMSE-ester **150**, der bereits in Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho hergestellt worden war, zurückgegriffen werden.^[188,190,191] Die spätere Abspaltung der TMSE-Schutzgruppe mithilfe von Tetrabutylammoniumfluorid-(TBAF)-Lösung war jedoch nicht trivial und stellte sich oftmals als problematisch dar. Um dies zu umgehen wurde neben dem L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-TMSE-ester **148** ein ansonsten gleiches, an der Säure jedoch Benzylester-geschütztes L-Lysin-Derivat **149**, synthetisiert. Bei der späteren hydrogenolytischen Benzylspaltung sollten die *N*-Boc-geschützte Seitenkette und der säurelabile POM-Ester intakt bleiben. Für die Synthese des primären Amins **148** musste das bereitgestellte vollständig geschützte L-Lysin-Derivat **150** nach den in vorliegender Arbeit modifizierten und etablierten Bedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.1) hydrogenolytisch *N*-Cbz-entschützt werden, was nach dem

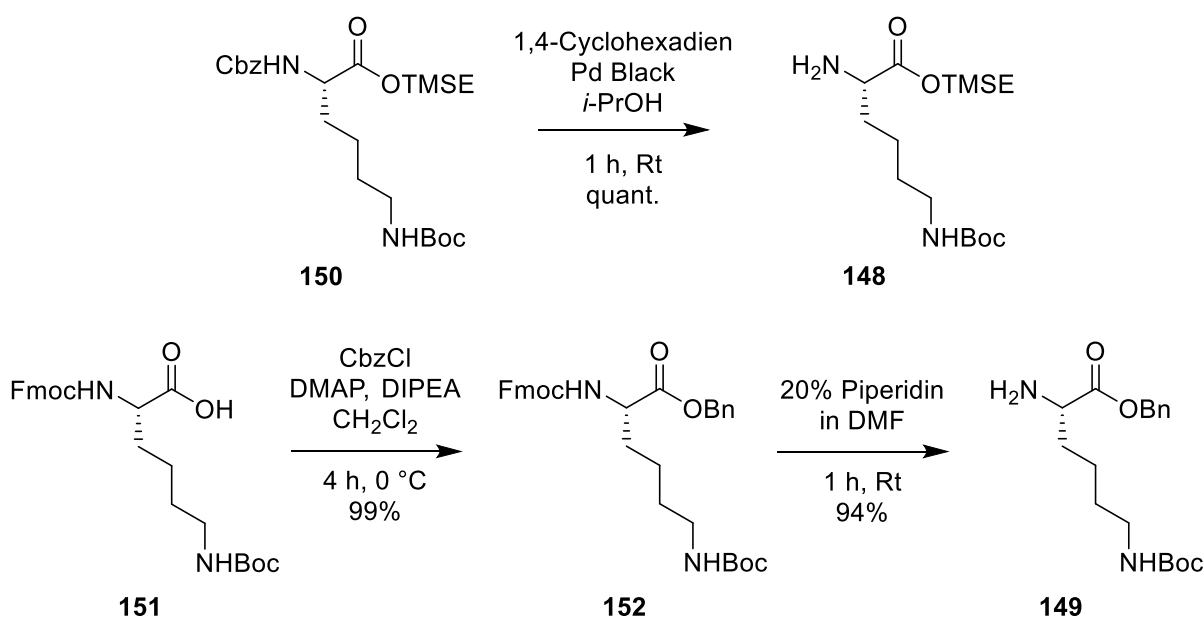


Abb. 4.19 Synthese der L-Lysin-Derivate **148** und **149** für die Harnstoffkupplung.

etablierten Protokoll in *iso*-Propanol mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Palladium Black in 1 h gelang (Abb. 4.19).

Für das Benzylester-geschützte primäre Amin **149** wurde zunächst kommerziell erhältliches *N*-Fmoc-(*N*^ε-Boc)-L-Lysin **151** Benzyl-geschützt, was nach einem Protokoll von de Meijere und Mitarbeitern durchgeführt wurde.^[192] Das Edukt **151** wurde dabei mit katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (0.1 Äq.) und einem Überschuss DIPEA (1.5 Äq.) in Dichlormethan vorgelegt. Anschließend wurde bei 0 °C eine Lösung von Benzyloxycarbonylchlorid (1.2 Äq.) in Dichlormethan zugetropft und 4 h bei 0 °C gerührt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte der *N*-Fmoc-L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **152** in exzellenter Ausbeute von 99% erhalten werden. Dieser wurde in *N,N*-Dimethylformamid mit Piperidin versetzt und innerhalb 1 h auf diese Weise *N*-Fmoc-entschützt.^[188] Der L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **149** konnte in einer sehr guten Ausbeute von 94% erhalten werden (Abb. 4.19).

4.6.1.3 Harnstoffkupplung und Synthese des POM-Ester-Harnstoffdipeptids **83**

Im Folgenden wurde zunächst das TMSE-Ester-geschützte L-Lysin-Derivat **148** mit beiden Thiocarbamaten **141** und **142** in einer Harnstoffkupplung umgesetzt, wobei sich an einer publizierten Vorschrift orientiert werden sollte.^[127] Diese war in der Arbeitsgruppe dahingehend modifiziert worden, dass aufgrund der Umweltgefährlichkeit von

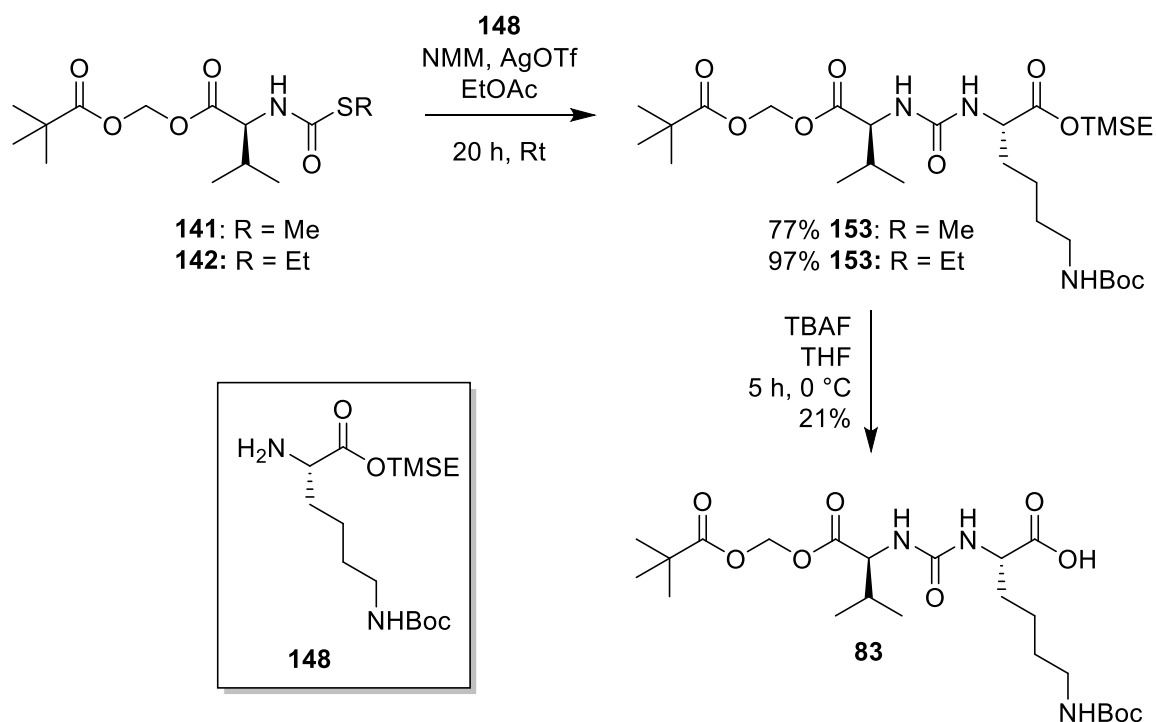


Abb. 4.20 Synthese des POM-Ester Harnstoffdipeptids **83**.

Quecksilberbromid stattdessen Silbertrifluormethansulfonat verwendet wurde.^[193] Aufgrund der Affinität des Silbers zu Schwefel, und da das Trifluormethansulfonat ein Gegenion mit geringem kovalenten Bindungsanteil zum Kation darstellt, liegt im Prinzip ein solvatisiertes Silberion vor. Das primäre Amin greift die aktivierte Carbonylfunktion unter Harnstoffbildung an. Die Thiocarbamate **141** und **142** wurden basierend auf diesen Erkenntnissen mit dem primären Amin **148** in Ethylacetat gelöst, mit *N*-Methylmorpholin (NMM) und Silbertrifluormethansulfonat (AgOTf) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wechselte von rosa über violett nach grau die Farbe und das vollständig geschützte Harnstoffdipeptid **153** konnte in einer guten Ausbeute von 77% erhalten werden, wenn mit dem *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **141** gearbeitet wurde. Wurde der *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **142** in der Harnstoffkupplung eingesetzt, führte dies zu einer exzellenten Ausbeute von 97% (Abb. 4.20). Diese Feststellung unterstrich noch einmal den in der Synthese der Thiocarbamate beobachteten Umstand (vgl. Kapitel 4.6.1.1), dass das Ethyl-Derivat **142** stabiler als das Methyl-Derivat **141** war. Deshalb wurde im weiteren Verlauf nur noch auf Thiocarbamat **142** für weitere Harnstoffkupplungen zurückgegriffen. Abschließend sollte die TMSE-geschützte Carboxylgruppe basisch verseift und auf diese Weise das POM-Ester-Harnstoffdipeptid **83** generiert werden. Dazu wurde das vollständig geschützte Edukt **153** in Tetrahydrofuran mit 1 M TBAF-Lösung (0.9 Äq.) bei 0 °C zunächst für 2 h umgesetzt. Da noch kein Umsatz beobachtet werden konnte, wurde erneut TBAF-Lösung (0.4 Äq.) hinzugegeben, weitere 2 h bei 0 °C gerührt, anschließend auf Raumtemperatur erwärmt und ein letztes Mal TBAF-Lösung (0.2 Äq.) hinzugegeben. Auf diese Weise konnte jedoch kein Produkt **83** isoliert werden. Das Ergebnis wiederholte sich auch, wenn besonders trocken und mit äquimolaren Mengen an TBAF-Lösung anstatt eines Überschusses gearbeitet wurde. Erst als die Temperatur für die gesamte Reaktionszeit bei 0 °C gehalten wurde und die Reaktionsmischung direkt ohne wässrige Aufarbeitung säulenchromatographisch gereinigt wurde ergab sich eine mäßige Ausbeute von 21% (Abb. 4.20). Aus diesen Beobachtungen ließ sich schließen, dass ein POM-Ester-derivatisiertes Harnstoffdipeptid nahezu ungeeignet für die basischen Bedingungen einer TMSE-Ester Verseifung ist, besonders in Verbindung mit einer wässrigen Aufarbeitung, da dies zu einem Zerfall des Dipeptids führte.

Um diesem Problem aus dem Weg zu gehen sollte, wie schon zuvor erwähnt, der TMSE-Ester durch einen Benzylester ersetzt werden. Auf diese Weise sollte das POM-Ester-Harnstoffdipeptid **83** in einer abschließenden hydrogenolytischen Abspaltung der Benzylgruppe erhalten werden. Die Harnstoffkupplung zwischen dem

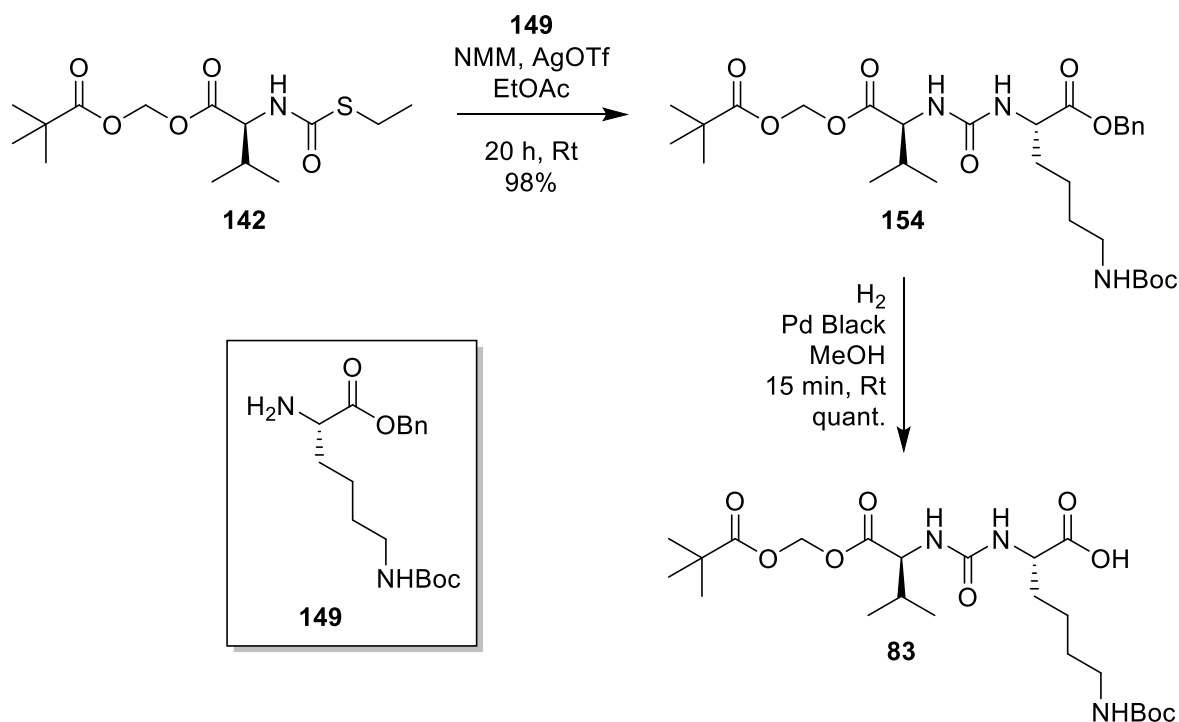


Abb. 4.21 Verbesserte Synthese des POM-Ester-Harnstoffdipeptids **83**.

N-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **142** und dem L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **149** erfolgte auf analoge Weise wie zuvor (Abb. 4.21). Erneut konnte für das geschützte Harnstoffdipeptid **154** eine sehr gute Ausbeute von 98% erzielt werden. Dieses wurde abschließend in Methanol mit Palladium Black für 15 min unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Auf diese Weise wurde der Benzylester hydrogenolytisch gespalten und das POM-Ester-Harnstoffdipeptid **83** ohne weitere Aufreinigung in quantitativer Ausbeute erhalten (Abb. 4.21). Im Folgenden konnte nun dieses Dipeptid, über welches der Esterase-spaltbare POM-Ester ins Molekül eingeführt werden konnte, in Peptidkupplungsreaktionen zur Darstellung von Muraymycin-Prodrugs eingesetzt werden.

4.6.2 Synthese des Benzylester-Harnstoffdipeptids **86**

Im Verlauf der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass die in die Muraymycin-Prodrugs eingeführten Esterase-spaltbaren POM-Gruppen eine Anfälligkeit für die Abspaltung während der globalen sauren Entschützung, die den letzten Schritt der Synthese darstellte, aufwiesen (vgl. Kapitel 4.10.2). *Tert*-Butylester, die normalerweise in früheren Synthesen von Muraymycin-Analoga in der Arbeitsgruppe Ducho als sauer spaltbare Schutzgruppe für das Harnstoffdipeptid-Motiv eingesetzt wurden, sollten gemieden werden. Im Zuge dieser Arbeit konnte in Studien zur globalen sauren Entschützung gezeigt werden, dass für die Spaltung des *tert*-Butylesters der bei weitem größte Anteil an Säure aufgebracht werden muss (vgl. Kapitel

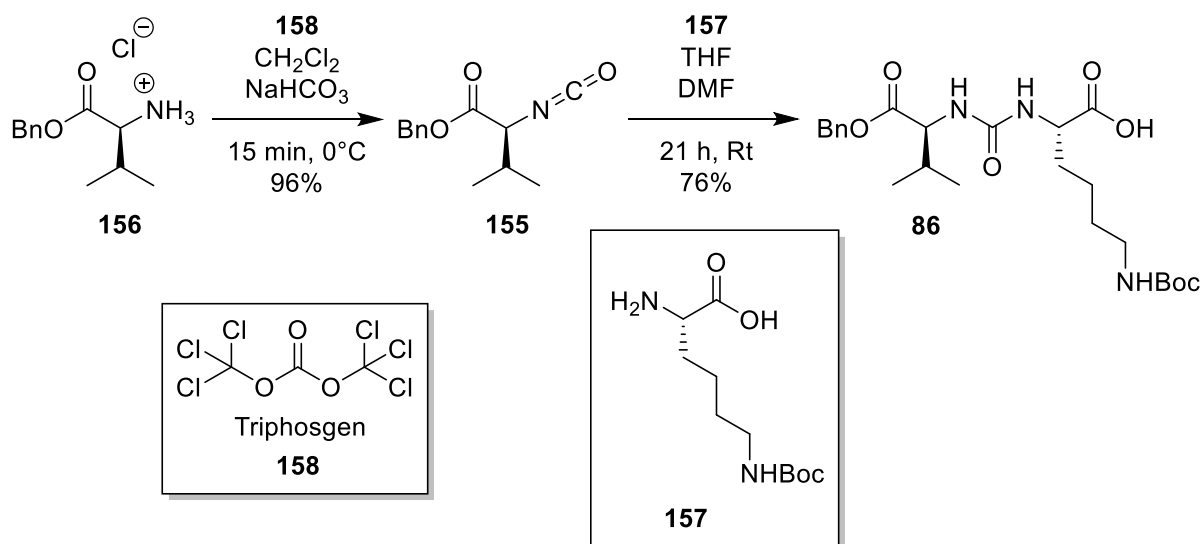


Abb. 4.22 Synthese des Benzylester-Harnstoffdipeptids **86**.

4.9.2). Für die Synthese weiterer Muraymycin-Prodrugs sollte daher ein an der Säurefunktion des L-Valins Benzyl-geschütztes Harnstoffdipeptid **86** generiert werden. In abschließenden zweistufigen Entschützungen des Muraymycin-Prodrugs sollte dann zunächst der Benzylester hydrogenolytisch gespalten werden, bevor mit einem milden sauren Entschützungsschritt abgeschlossen wurde.

Für die Synthese des Harnstoffdipeptids **86** sollte eine neue, in der Arbeitsgruppe Ducho von Christian Schütz durchgeführte, Methode über das Isocyanat **155** des eingesetzten L-Valin-Derivats **156** etabliert werden.^[189,194] Anstatt wie bisher mithilfe von Thiocarbamaten durchgeführt, sollte die Synthese lediglich zwei Stufen anstelle von fünf umfassen, da das generierte L-Valin-Isocyanat **155** abschließend nur noch mit dem Seitenketten-geschützten L-Lysin-Derivat **157** zum Harnstoffdipeptid **86** umgesetzt werden musste. Auch trat bei dieser Methode keine in der Vergangenheit bei Harnstoffkupplungen beobachtete Isomerisierung auf. Da mit hoch giftigem Triphosgen **158** gearbeitet wurde um das Isocyanat **155** zu generieren, war äußerste Vorsicht geboten. Dies ist zwar als Feststoff leicht zu handhaben, setzt bei der Reaktion jedoch noch giftigeres Phosgen frei, welches bei einer Arbeitstemperatur von 0°C als Flüssigkeit, bei Raumtemperatur jedoch als äußerst aggressives Gas vorliegt. Das kommerziell erhältliche Benzylester-geschützte L-Valin **156** wurde in einer Mischung aus Dichlormethan und ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (1:1) unter kräftigem Rühren bei 0°C mit Triphosgen **158** (0.33 Äq.) in einer Portion versetzt und für 15 min kräftig bei 0°C gerührt (Abb. 4.22). Da Phosgen keinesfalls nach Abschluss der Reaktion im Überschuss vorliegen sollte, wurden genau äquimolare Mengen eingesetzt. Das Rohprodukt **155** wurde nach Aufarbeitung aufgrund seiner

Flüchtigkeit nicht im Hochvakuum getrocknet. Aufgrund der zusätzlichen Instabilität des generierten *O*-Benzyl-L-Valin-Isocyanats **155** wurde nur ein ^1H -NMR-Spektrum zur Identifizierung der Substanz aufgenommen, welche in guter Reinheit >95% und einer sehr guten Ausbeute von 96% erhalten wurde.

Das dargestellte Isocyanat **155** wurde anschließend direkt umgesetzt, dafür in Tetrahydrofuran gelöst und eine Suspension des kommerziell erhältlichen Seitenketten-geschützten (N^{ϵ} -Boc)-L-Lysin **157** in *N,N*-Dimethylformamid hinzuge tropft. Aufgrund schlechter Löslichkeit wurde *N,N*-Dimethylformamid im Überschuss eingesetzt und die Suspension 21 h gerührt, bis eine klare Lösung entstanden war. Das gewünschte Benzylester-Harnstoffdipeptid **86** konnte in guter Ausbeute von 76% isoliert werden (Abb. 4.22).

4.6.3 Synthese des vollständig entschützten POM-Ester-Harnstoffdipeptids **159** als Referenzverbindung

Das *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-L-lysin **159** wurde durch eine saure *N*-Boc-Entschützung des POM-Ester-Harnstoffdipeptids **83** erhalten und sollte in ersten Studien zur Evaluierung des Einflusses der POM-Gruppe als Esterase-spaltbare Gruppe in einer verkürzten und vereinfachten Muraymycin-abgeleiteten Verbindung dienen. Dabei sollten vor allem erste Stabilitätsmessungen durchgeführt werden, die Rückschlüsse auf die Stabilität von POM-Gruppen in den darzustellenden Muraymycin-Prodrugs geben sollten. Für die Entschützung wurde das Harnstoffdipeptid **83** in Tetrahydrofuran gelöst, 20% Trifluoressigsäure in Wasser hinzugegeben und 16 h bei Raumtemperatur gerührt (Abb. 4.23). Bei diesen milden Entschützungsbedingungen der *N*-Boc-Gruppe, die im Zuge von Studien zur globalen sauren Entschützung entwickelt wurden (vgl. Kapitel 4.9.2), blieb die POM-Gruppe intakt. Das entschützte Harnstoffdipeptid **159** konnte nach semipräparativer HPLC-Reinigung in einer moderaten Ausbeute von 52% erhalten und im Weiteren für die beschriebenen Studien eingesetzt werden.

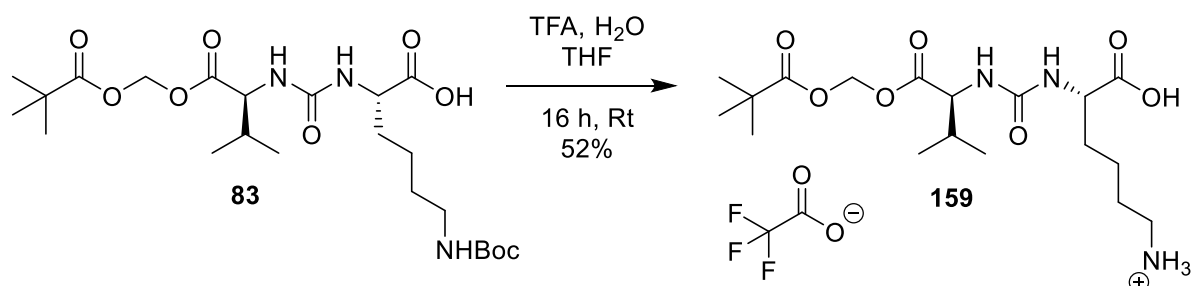


Abb. 4.23 Synthese des vollständig entschützten POM-Ester-Harnstoffdipeptids **159** als Referenzverbindung.

4.7 Synthese des Uridin-5'-Aldehyds **35**

Als Grundbaustein der Muraymycine dient der Uridin-5'-Aldehyd **35**, der das für Muraymycine essentielle Uridin-Grundgerüst ins Molekül einbringt. Von diesem ausgehend konnten im Folgenden verschiedene Nucleosyl-Aminosäuren und darauf aufbauend sämtliche in vorliegender Arbeit dargestellten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga und Muraymycin-Prodrugs aufgebaut werden.

Der Uridin-5'-Aldehyd **35** sollte ausgehend von kommerziell erwerblichem Uridin **1** über drei Stufen synthetisiert werden (Abb. 4.24). Dazu wurde Uridin **1** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (3.2 Äq.) und Imidazol (4.0 Äq.) als Aktivator in Pyridin umgesetzt. Diese Reaktion wurde bei Raumtemperatur 3 d gerührt und so das 2',3',5'-*O*-Tris-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin **160** in einer Ausbeute von 94% erhalten (Abb. 4.24).^[172] Wie 2000 von Scott und Mitarbeitern berichtet^[120] konnte das Substrat **160** selektiv an der primären Hydroxy-Funktion in 5'-Position desilyliert werden. Dazu wurde Verbindung **160** in Tetrahydrofuran bei 0 °C mit 50% TFA in Wasser versetzt und bei 0 °C gerührt. Bei tiefer Temperatur stellten diese mild sauren Bedingungen die Selektivität für die Abspaltung des Silylethers an der primären Hydroxy-Funktion sicher. Da nach längeren Reaktionszeiten jedoch auch eine partielle Entschützung der sekundären Hydroxy-Funktionen in 2'- oder 3'-Position mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion nach 6 h beendet. Der Uridin-5'-Alkohol **161** wurde in guter Ausbeute von 80% erhalten.

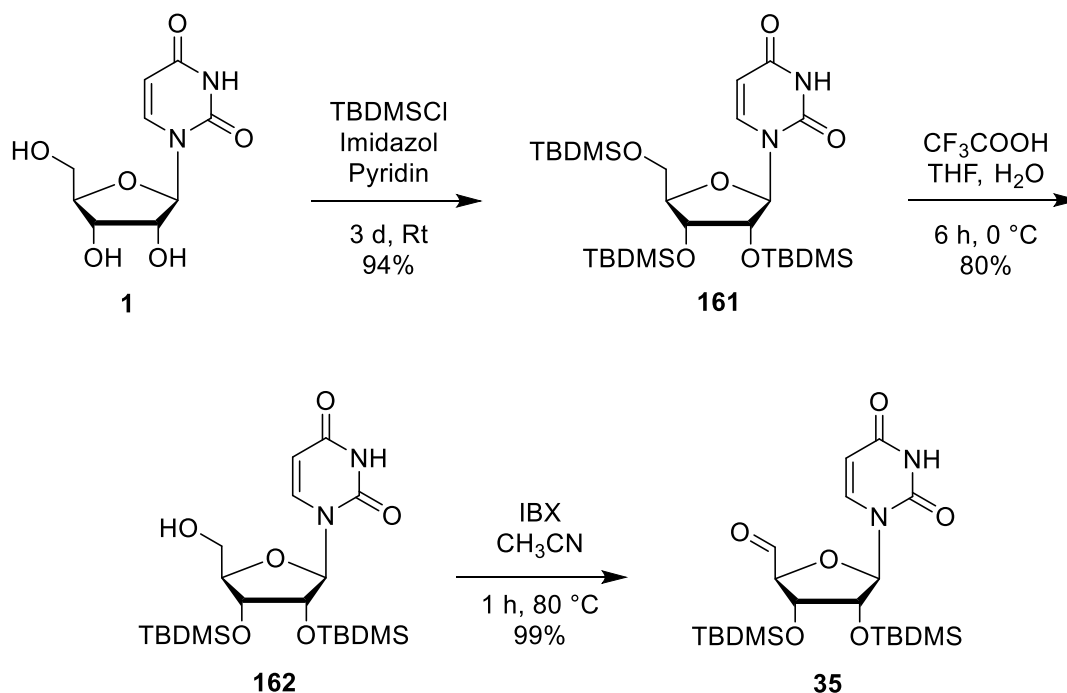


Abb. 4.24 Synthese des Uridin-5'-Aldehyds **35**.

Die effiziente Darstellung der allgemein sehr labilen Nucleosyl-5'-Aldehyde, hier im Speziellen des Uridin-5'-Aldehyds **35**, sollte mittels einer möglichst milden Reaktionsführung unter Verzicht auf Säuren oder Basen durchgeführt werden. Zudem sollten wässrige Aufarbeitungen oder säulenchromatographische Reinigungen vermieden werden. Daher wurde nach einer Vorschrift von More und Finnley^[195] der Uridin-5'-Alkohol **161** in Acetonitril mit 2-Iodoxybenzoesäure (IBX) (2.5 Äq.) versetzt und 1 h auf 80 °C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert, das Lösungsmittel entfernt und so der Uridin-5'-Aldehyd **35** überaus effizient in exzellenter Ausbeute von 99% erhalten (Abb. 4.24).

Der Aldehyd **35** wurde aufgrund seiner Instabilität jeweils frisch dargestellt und unverzüglich in den nachfolgenden Reaktionen umgesetzt. Zudem wurde aufgrund der Labilität der Verbindung, bis auf die Messung eines ¹H-NMR-Spektrums und der massenspektrometrischen Untersuchung der Substanz, auf eine weitere analytische Charakterisierung verzichtet. Die Struktur konnte jedoch anhand der vorliegenden Daten eindeutig identifiziert werden. Ausgehend von Uridin **1** konnte somit der Uridin-5'-Aldehyd **35** in einer Gesamtausbeute von 74% über drei Stufen erhalten werden.

4.8 Synthese von Uridin-abgeleiteten Nucleosyl-Aminosäuren

Das wohl wichtigste Fragment für den stereoselektiven Aufbau von Muraymycin-Analoga nach einem in der Arbeitsgruppe Ducho entwickelten dreiteiligen Synthese-Ansatz (vgl. Kapitel 2.5.3 und Kapitel 3)^[79,132] stellen Uridin-abgeleitete Nucleosyl-Aminosäuren dar. Setzt man diese mit verschiedenen L-Leucin-abgeleiteten Aldehyden als zweitem Teil und Harnstoffdipeptiden als drittem Teil um, gelangt man zu komplexen Muraymycin-Strukturen. Ausgehend von dem Uridin-5'-Aldehyd **35** können mit verschiedenen Strategien an 5'- und 6'-Position verschiedene Konfigurationen bis hin zu 5'-Desoxy-Verbindungen als Nucleosyl-Aminosäure generiert werden.

4.8.1 Synthese der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren

Die 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren weisen eine gute synthetische Zugänglichkeit auf. In vorliegendem Projekt wurde die (6'S)-konfigurierte 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** (Abb. 4.26) für die Generierung der über Propyllinker 6'-N- und N3- aminoribosylierten Muraymycin-Analoga verwendet. Das TFA-Salz der (6'S)-konfigurierten POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** (Abb. 4.31) wurde für die Darstellung der Muraymycin-Prodrugs

eingesetzt. Im Folgenden ist die Synthese verschiedener Analoga dieser Nucleosyl-Aminosäuren aufgeführt.

4.8.1.1 Synthese der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43**

Die 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** (Abb. 4.26) wurde einer bekannten Strategie folgend synthetisiert.^[140] Ausgangspunkt war der zuvor dargestellte Uridin-5'-Aldehyd **35**, welcher in einer Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] mit dem *tert*-Butylester-Phosphonat **44** (vgl. Kapitel 4.2.1) umgesetzt wurde. Dazu wurde dieses zunächst in Tetrahydrofuran bei -78 °C mit Kaliumhexamethyldisilazan als Base deprotoniert und anschließend der Uridin-5'-Aldehyd **35** (1.2 Äq.) in leichtem Überschuss hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über 16 h auf Raumtemperatur erwärmt und die *Z*-Didehydro-Aminosäure **45** in einer Ausbeute von 67% erhalten (Abb. 4.25).

Es wurde zwar in der Literatur eindeutig beschrieben, dass derartige Wittig-Horner-Reaktionen von Glycin-abgeleiteten Phosphonaten mit Aldehyden selektiv zu *Z*-konfigurierten α,β -Didehydro-Aminosäureestern führen, jedoch kann unter basischen Bedingungen eine *E/Z*-Isomerisierung auftreten, was auch in der Arbeitsgruppe Ducho bereits beobachtet werden konnte.^[140] Vor diesem Hintergrund wurde der Aldehyd **35** in leichtem Überschuss bei tiefen Temperaturen hinzugegeben und so die bevorzugte Bildung des *Z*-Olefins **45** gewährleistet. Der Beleg, dass es sich bei der dargestellten Verbindung

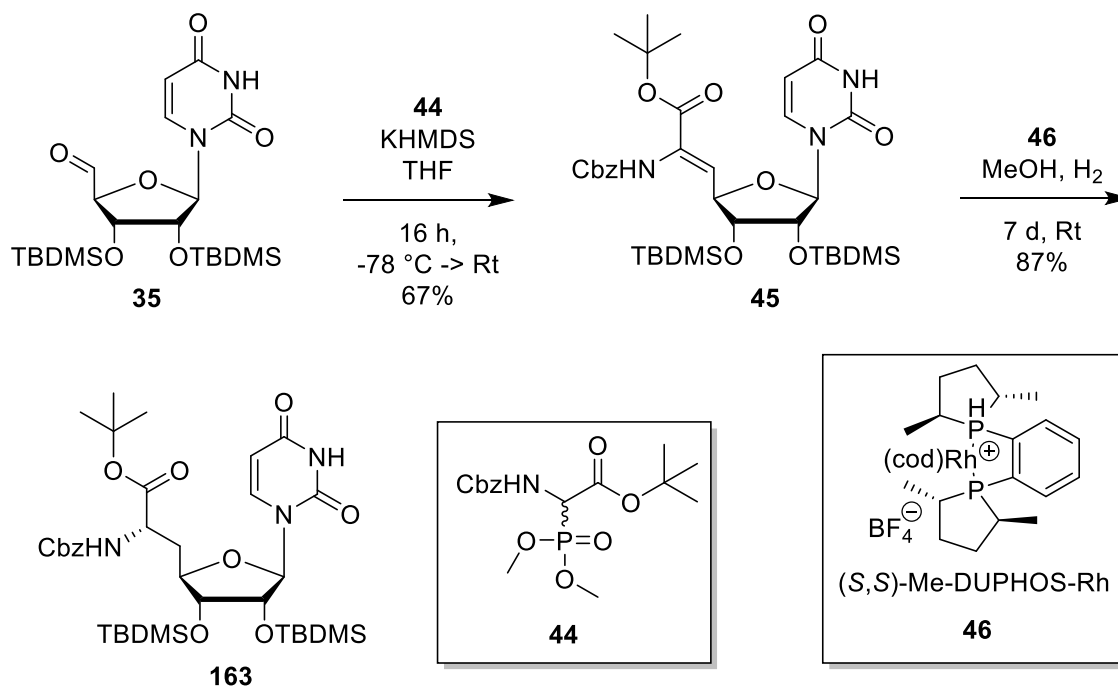


Abb. 4.25 Synthese der (6'*S*)-konfigurierten *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163**.

zweifelsfrei um die *Z*-konfigurierte Verbindung **45** und nicht um das entsprechende *E*-Olefin handelte, war bereits von Ducho und Mitarbeitern erbracht worden.^[140] Dabei wurde mittels ¹H-¹H-NOE-NMR-Experimenten das Produkt der Wittig-Horner-Reaktion **45** eindeutig als *Z*-Olefin identifiziert, wobei es in der Literatur zusätzlich empirische Regeln für die ¹H-NMR-Daten solcher Verbindungen gibt.^[196] Des Weiteren sollte nicht unerwähnt bleiben, dass eine Nucleobasen-Schutzgruppe unter diesen Reaktionsbedingungen nicht essentiell zu sein scheint, da die vorliegende Wittig-Horner-Reaktion trotz der signifikanten Acidität des *N*3-Protons und der erheblichen basischen Bedingungen die gewünschte *Z*-Didehydro-Aminosäure **45** in einer guten Ausbeute von 67% lieferte.^[140]

Beide Enantiomere der chiralen Me-DUPHOS-Rh Katalysatoren waren in der Arbeitsgruppe Ducho bereits zuvor für homogene asymmetrische Hydrierungen von α,β -Didehydro-Aminosäureestern wie dem *Z*-Olefin **45** verwendet worden. Dabei ist bekannt, dass eine Hydrierung in Gegenwart des (*S,S*)-Me-DUPHOS-Rh-Katalysators **46** ausschließlich *L*-Aminosäuren liefert, wohingegen mit dem entsprechenden enantiomeren Katalysator ausschließlich *D*-Aminosäuren generiert werden.^[149,150] Ferner konnte bis zum jetzigen Zeitpunkt beobachtet werden, dass bei diesem Reaktionstyp die Katalysatorkontrolle eine mögliche Substratkontrolle des chiralen nucleosidischen Olefins dominierte.^[139]

Zur Darstellung der (6'*S*)-konfigurierten *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163** wurde das *Z*-Olefin **45** in Methanol als Lösungsmittel mit dem (*S,S*)-Me-DUPHOS-Rh-Katalysator **46** in katalytischen Mengen über einen Zeitraum von 7 d unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) bei Raumtemperatur gerührt und das gewünschte sekundäre Amin **163** in einer sehr guten Ausbeute von 87% erhalten (Abb. 4.25). Dass es sich bei dem isolierten Produkt **163** zweifelsfrei um die (6'*S*)-konfigurierte Verbindung handelte, war bereits durch Ducho und Mitarbeiter mithilfe von röntgenkristallographischen Untersuchungen eindeutig belegt worden.^[140]

Die (6'*S*)-konfigurierte 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** ließ sich abschließend durch hydrogenolytische Abspaltung der *N*-Cbz-Schutzgruppe mit dem Reagenz 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) darstellen. Das Substrat **163** wurde innerhalb von 1 h bei Raumtemperatur mit dem Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle (14 mol%) in einer exzellenten Ausbeute von 99% in das (6'*S*)-konfigurierte Amin **43** überführt (Abb. 4.26, Tab. 4.2, Eintrag 1). In früheren Arbeiten von Ducho und Mitarbeitern konnte bereits gezeigt werden, dass diese Art der Transferhydrierung für *N*-Cbz-Entschützungen von Uracil-haltigen Nucleosyl-Aminosäuren weitaus geeigneter ist als Hydrierungen mit elementarem Wasserstoff. Die Transferhydrierung ermöglicht eine wesentlich mildere Reaktionsführung, wodurch eine

unerwünschte Reduktion der Nucleobase in 5,6-Position vollständig unterbunden werden konnte.^[140]

Im Verlauf vorliegender Arbeit musste die Synthesestrategie der hydrogenolytischen Entschützung jedoch umgestellt werden, da neben dem gewünschten primären Amin **43** vermehrt auch ein zunächst nicht näher identifizierbares Nebenprodukt in nicht vernachlässigbaren Mengen entstand. Somit wurden die Reaktionsbedingungen dieser Umsetzung erneut gescreent wobei mit dem Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle begonnen wurde.

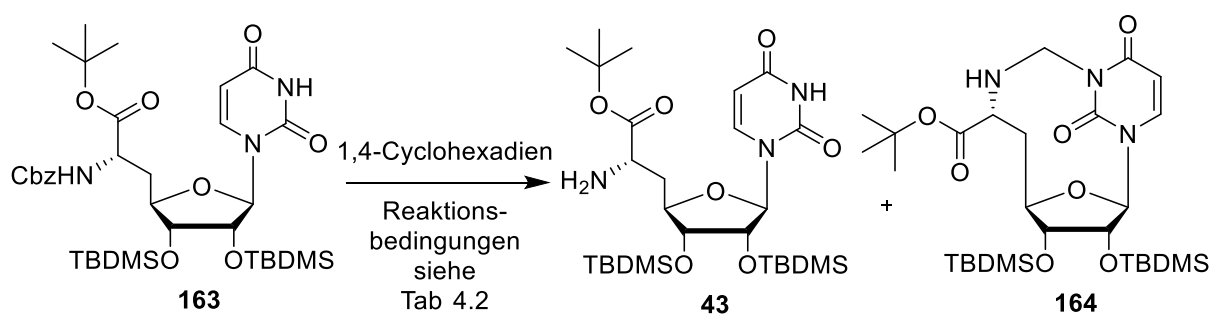


Abb. 4.26 Synthesestudien zur (6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **43**.

Eintrag	Firma	Katalysator	Kat. Äq.	Lösungsmittel	Zeit	Ergebnis
1	Alfa Aesar	10% Pd/C	0.14	MeOH	1 h	43 : 99%
2	Alfa Aesar	10% Pd/C	1.4	MeOH	1 h	43 : 36% 164 : 64%
3	ABCR	10% Pd/C	0.68	MeOH	1 h	43 : 77% 164 : 23%
4	ABCR	10% Pd/C	2 x 0.68	<i>i</i> -PrOH	6 h	43 : quant.
5	Sigma Aldrich	Pd Black	1.5	<i>i</i> -PrOH	1 h	43 : quant.

Tab. 4.2 Reaktionsbedingungen zur Synthese der Nucleosyl-Aminosäure **43**.

Da nicht auszuschließen war, dass der Katalysator der Firma *Alfa Aesar* einen maßgeblichen Anteil an der Zersetzung gehabt haben könnte, wurde in einem zweiten Versuch (Tab. 4.2, Eintrag 2) die Entschützung unter gleichen Bedingungen mit einem Überschuss des Katalysators der gleichen Firma durchgeführt. Hier zeigte die dünnschichtchromatographische Verfolgung nach 1 h Reaktionszeit einen vollständigen Umsatz. Jedoch konnte in diesem Fall nur ein Gemisch aus zwei Verbindungen isoliert werden, wobei das gewünschte Produkt, das Amin **43**, nur zu rund 36% vorlag. Mithilfe des ¹H-NMR-Spektrums, einer massenspektrometrischen Untersuchung, die die Molekülmasse *m/z* +12 anzeigte, und

weiterer eingehender Untersuchungen anhand von ^1H - ^{13}C -HSQC- und ^1H - ^{13}C -HMBC-Korrelations-Spektren, wurde schließlich postuliert, dass es sich bei dem entstandenen Nebenprodukt um das cyclisierte Aminal **164** handeln musste. Es musste eine Cyclisierung

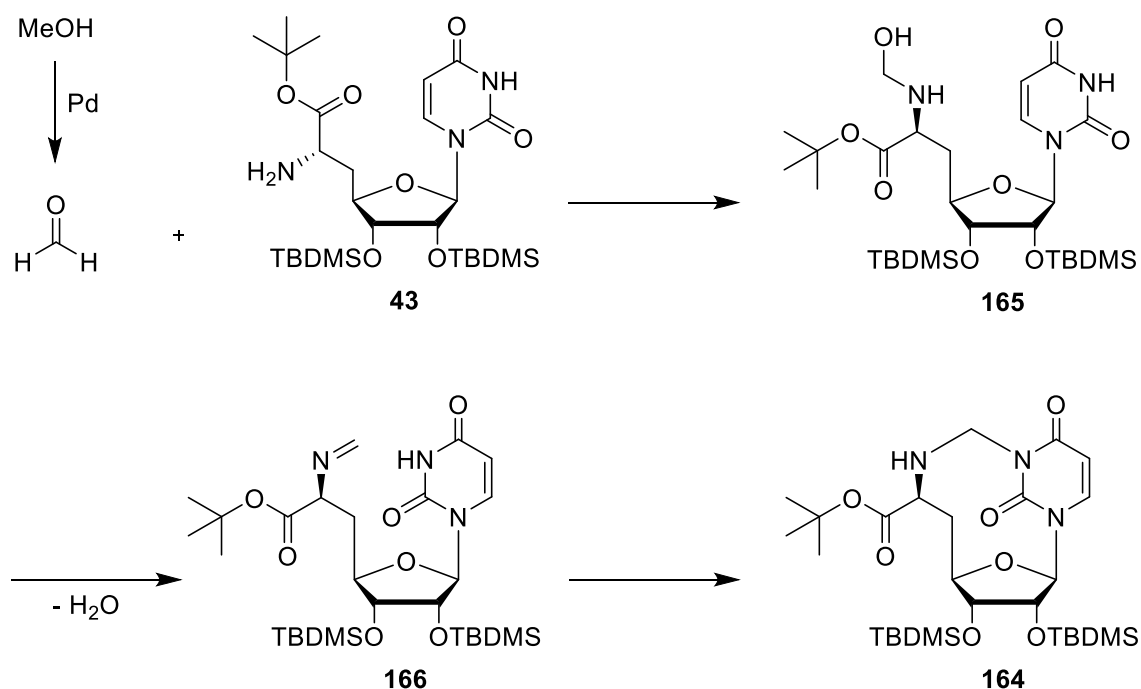


Abb. 4.27 Entstehung des cyclisierten Nebenproduktes **164**.

zwischen dem entstehenden freien Amin und dem *N*3-Stickstoff-Atom der Nucleobase stattgefunden haben, wobei Formaldehyd als Reaktand dieser Nebenreaktion aus Methanol am Palladium-Katalysator gebildet und eingebaut wurde. Dies führte zu dem zu rund 64% vorliegenden cyclisierten Nebenprodukt **164**, wobei zunächst der Alkohol **165** und durch Wasserabspaltung das Imin **166** als Zwischenstufen gebildet wurden (Abb. 4.27).

Da dieses Phänomen bis zu diesem Zeitpunkt in der Arbeitsgruppe Ducho nicht beobachtet worden war, waren weitere Studien notwendig, um diesem Problem auf den Grund zu gehen. In einem weiteren Versuch der Entschützung der Nucleosyl-Aminosäure **163** mit dem gleichen Katalysator, jedoch von der Firma ABCR bezogen (Tab. 4.2, Eintrag 3), wurde wiederum das beschriebene Gemisch isoliert. Dabei stieg in diesem Versuch der Anteil der Zielverbindung **43** auf 77%. Das Auftreten dieses neuen Phänomens konnte somit nicht ausschließlich dem Katalysator zugeschrieben werden. Es fiel jedoch auf, dass der Anteil am Nebenprodukt **164** mit geringerer Katalysatormenge abnahm.

Im Folgenden sollte ein Wechsel des Lösungsmittels von Methanol auf *iso*-Propanol dazu führen, dass kein für die Cyclisierungsreaktion essentieller Formaldehyd mehr gebildet werden konnte und die Nebenreaktion somit unterbunden wurde. Dies wurde zunächst unter gleichbleibenden Bedingungen (Tab. 4.2, Eintrag 4) getestet. Hierbei wurde festgestellt, dass

sich die Reaktionszeit der Entschützung auf insgesamt 6 h stark verlängerte. Daher wurde nach 3 h weiterer Katalysator hinzugegeben. Die Nucleosyl-Aminosäure **43** konnte auf diese Weise schließlich in quantitativer Ausbeute und exzellenter Reinheit >95% isoliert werden.

Schlussendlich wurde in einem letzten Versuch Palladium Black anstelle von 10% Palladium auf Aktivkohle eingesetzt um die Reaktionszeit zu verkürzen, da bei langen Reaktionszeiten ein generelles Risiko der Zersetzung oder der Bildung von Nebenprodukten aus dem, bei längerer Lagerung anfälligen, primären Amin **43** bestand. Auf diese Weise konnte die Reaktionszeit erneut auf 1 h verkürzt werden (Tab. 4.2, Eintrag 5). Ein weiterer Zusammenhang der Bildung des Nebenproduktes **164** mit dem Hersteller des Katalysators konnte nicht hergestellt werden. Abschließend sollte an dieser Stelle festgehalten werden, dass bei der Übertragung der hydrogenolytischen *N*-Cbz-Entschützung auf den größeren Maßstab bedeutend kleinere Mengen des Katalysators Palladium Black im Vergleich zum eingesetzten Substrat für eine erfolgreiche Umsetzung ausreichten. Die 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** konnte auf diese Weise in einer Gesamtausbeute von 43% über 6 Stufen dargestellt werden.

4.8.1.2 Synthese des TFA-Salzes der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **167**

Im Zuge der Darstellung von Muraymycin-Prodrugs kam es während der Synthese der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** (Abb. 4.31) zu Problemen (vgl. Kapitel 4.8.1.4). Daher sollte anhand der 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **163** erarbeitet werden, ob eine Darstellung der Verbindung während der hydrogenolytischen Abspaltung der *N*-Cbz-Schutzgruppe prinzipiell auch als TFA-Salz **167** möglich wäre (Abb. 4.28). Um die Säurelabilität der TBDMS-Ether- und *tert*-Butylester-Schutzgruppen wissend, sollten dabei nur genau äquimolare Mengen von Trifluoressigsäure eingesetzt werden, die dann mit dem dargestellten primären Amin **43** das TFA-Salz **167** bilden sollten.

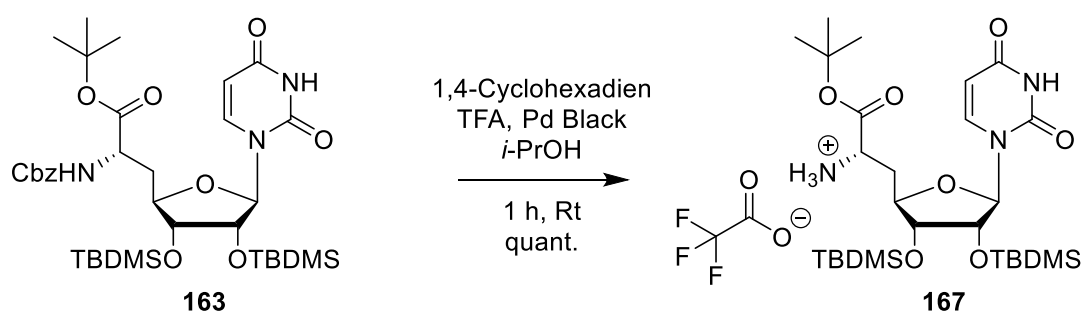


Abb. 4.28 Synthese des TFA-Salzes der Nucleosyl-Aminosäure **167**.

Nach teilweise modifizierten Bedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.1) wurde das Cbz-Amin **163** in einem ersten Versuch mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Trifluoressigsäure (1.0 Äq.) in *iso*-Propanol vorgelegt und die Reaktion durch Zugabe von 10% Palladium auf Aktivkohle gestartet. Auf diese Weise konnte das gewünschte TFA-Salz **167** in quantitativer Ausbeute und exzellenter Reinheit erhalten werden. Jedoch war die Reaktionszeit mit 21 h sehr lang und es musste mehrmals 1,4-Cyclohexadien und 10% Palladium auf Aktivkohle nachgegeben werden. Dies änderte sich in einem zweiten Versuch, in dem bei identischer Reaktionsführung Palladium Black eingesetzt wurde und die Reaktionszeit auf 1 h verkürzt werden konnte. Dabei wurde das TFA-Salz **167** in ebenso guter Ausbeute und Reinheit isoliert (Abb. 4.28). Dass es sich bei der synthetisierten Verbindung um das TFA-Salz **167** handelte, konnte anhand eines ^{19}F -NMR Spektrums belegt werden. Die Darstellung von Nucleosyl-Aminosäuren als TFA-Salze war also problemlos möglich.

4.8.1.3 Synthese der Nucleobasen-alkylierten (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **168**

Es konnte festgestellt werden, dass die Amino-Funktion von Nucleosyl-Aminosäuren eine unübliche und interessante Reaktivität aufwies. Vermutet wurde, dass ein spezielles Zusammenspiel von Wechselwirkung dieser funktionellen Gruppe mit der Nucleobase und sterischer Abschirmung durch die Carboxyl-Schutzgruppe, in diesem Fall durch den *tert*-Butylester, dabei eine Rolle spielte. So eignete sich das primäre Amin problemlos für reduktive Aminierungen, die über eine sp^2 -hybridisierte Zwischenstufe abliefen und stellte somit die Zugänglichkeit für sämtliche Muraymycin-Analoga sicher. Hochinteressant war jedoch, dass eine einfache Alkylierung dieser primären Amino-Funktion, die über eine sp^3 -hybridisierte Zwischenstufe verlief, nicht möglich war. Um dies noch einmal zu veranschaulichen wurde das primäre Amin **43** mit dem 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113** in einer Alkylierungsreaktion mit Kaliumcarbonat umgesetzt. Zunächst konnten in den

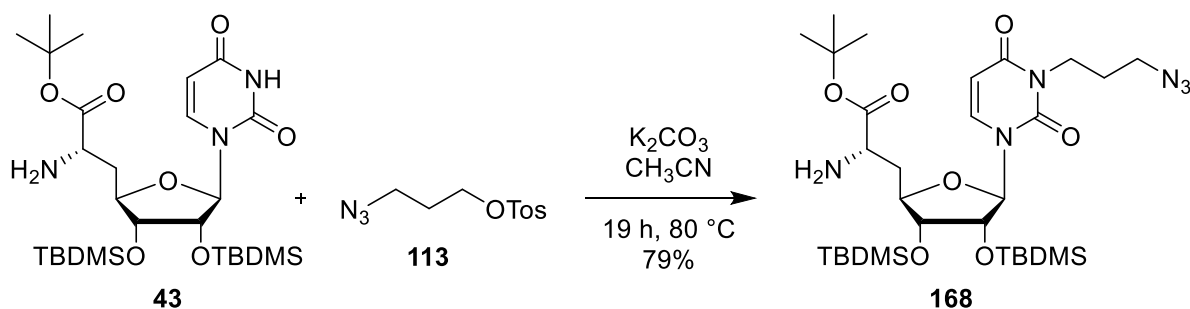


Abb. 4.29 Untersuchung zur Reaktivität der primären Amino-Funktion.

Lösungsmitteln Dichlormethan, Toluol und Tetrahydrofuran keine Ergebnisse erzielt werden, bis in Acetonitril nach 19 h bei 80 °C eine Verbindung in der Ausbeute von 79% isoliert werden konnte (Abb. 4.29). Dass es sich dabei nicht um ein an der Amino-Funktion der Nucleosyl-Aminosäure alkyliertes Produkt sondern um ein am *N3* der Nucleobase substituiertes Analogon **168** handelte, konnte eindeutig im ^1H - ^{13}C -HMBC-Korrelationsspektrum durch $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungen zwischen *C*-2 und *C*-4 und der *N3*-CH₂-Gruppe in Nachbarschaft zum *N3* der Nucleobase gezeigt werden.

Somit konnte erneut bestätigt und noch einmal gezeigt werden, dass die Nucleosyl-Aminosäure **43** nicht für den Aufbau von Muraymycin-Strukturen mithilfe von Alkylierungsreaktionen geeignet war.

4.8.1.4 Synthese der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162**

Als Baustein für folgende reduktive Aminierungen zu Muraymycin-Prodrugs sollte die (6'*S*)-konfigurierte 5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** (Abb. 4.31) mithilfe des *N*-Cbz-geschützten POM-Ester-Phosphonats **79** (vgl. Kapitel 4.2.2) aufgebaut werden. Wiederum ausgehend vom Uridin-5'-Aldehyd **35** wurde die Nucleosyl-Aminosäure auf sehr ähnliche Weise dargestellt, wie zuvor die Nucleosyl-Aminosäure **43** (vgl. Kapitel 4.8.1.1). Beginnend mit einer Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] mit dem Phosphonat **79** wurde dieses

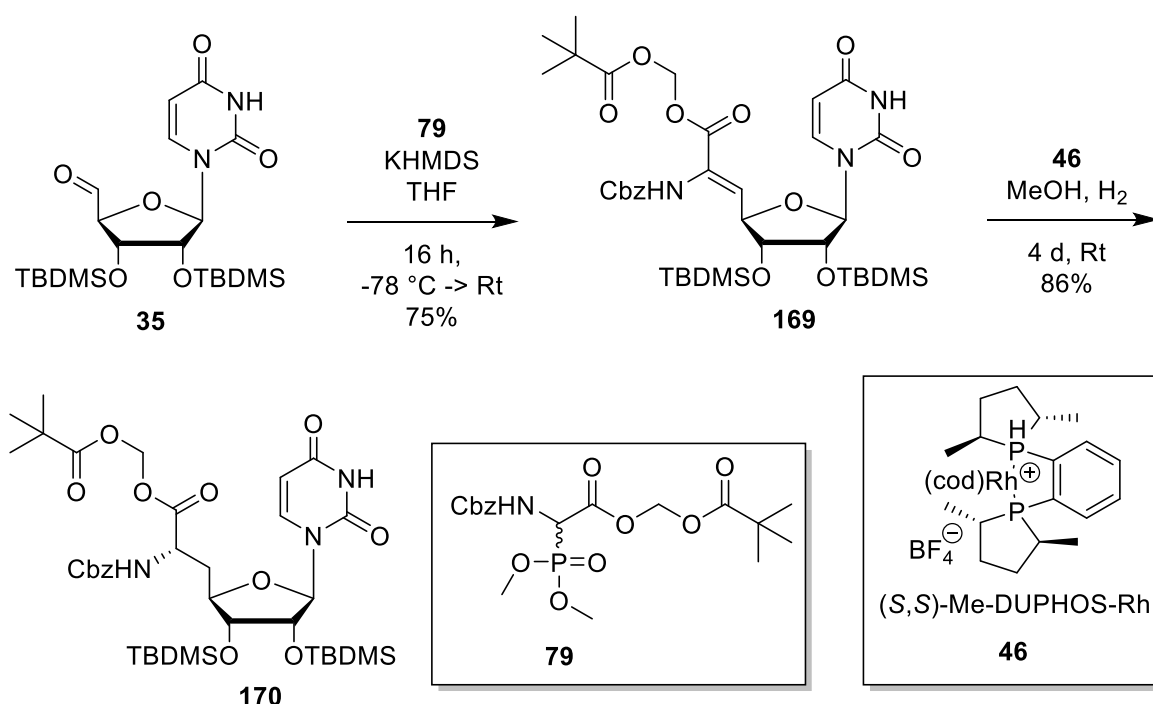


Abb. 4.30 Synthese der (6'*S*)-konfigurierten *N*-Cbz-geschützten POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **170**.

zunächst in Tetrahydrofuran bei -78 °C mit Kaliumhexamethyldisilazan als Base deprotoniert und anschließend der Uridin-5'-Aldehyd **35** (1.2 Äq.) in leichtem Überschuss hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über 16 h auf Raumtemperatur erwärmt und selektiv die POM-Ester-Z-Didehydro-Aminosäure **169** in einer Ausbeute von 75% erhalten (Abb. 4.30).

In einem ersten Versuch der Darstellung der (6'*S*)-*N*-Cbz-geschützten POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **170** wurde das *Z*-Olefin **169** in Methanol mit dem (*S,S*)-Me-DUPHOS-Rh-Katalysator **46** in katalytischen Mengen über einen Zeitraum von 4 d unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) bei Raumtemperatur gerührt und das gewünschte *N*-Cbz-Amin **170** in einer sehr guten Ausbeute von 86% diastereomerenrein erhalten (Abb. 4.30). An dieser Stelle muss festgehalten werden, dass in weiteren Darstellungen von Verbindung **170** in dieser Art, die bereits eingeräumte sehr gute Selektivität des DUPHOS-Katalysators nicht ganz bestätigt werden konnte. Dabei traten unterschiedliche Diastereomerenverhältnisse (*d.r.* 8:2 → 9:1) auf, was mithilfe von UV-Chromatogrammen ($\lambda = 254$ nm) aus LC-MS-Analysen belegt werden konnte. Eine sinnvolle Trennung der Diastereomere mittels HPLC konnte nicht erreicht werden. Ein Wechsel des Lösungsmittels für diese Reaktion von Methanol auf *iso*-Propanol schlug ebenfalls fehl, da kein Umsatz des Substrats **169** beobachtet werden konnte. Zunächst wurde im weiteren Verlauf der Synthese mit dem diastereomerenreinen Produkt **170** weitergearbeitet, weshalb keine Diastereomerenverhältnisse angegeben sind. Als später auf das verunreinigte Gemisch zurückgegriffen wurde, konnte festgestellt werden, dass das Diastereomer im Verlauf der Reinigung der Folgestufen nach und nach abgetrennt werden konnte und alle Zielverbindungen diastereomerenrein erhalten werden konnten. Somit wurde auf eine weitere Optimierung der Umsetzung von Verbindung **169** verzichtet.

In der folgenden Umsetzung des (6'*S*)-Carbamats **170**, sollte dies *N*-Cbz-entschützt und so die Nucleosyl-Aminosäure **77** generiert werden. Für die hydrogenolytische Abspaltung unter Zuhilfenahme von 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Palladium wurde zunächst auf die in der Arbeitsgruppe Ducho etablierte Standardvariante in Methanol und 10% Palladium auf Aktivkohle (18 mol%) zurückgegriffen (Abb. 4.31, Tab. 4.3, Eintrag 1). Nach 5 h war der Umsatz vollständig, isoliert werden konnte jedoch nur ein Gemisch aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten.

Auch in vorliegendem Fall sollte zunächst die Katalysatorqualität überprüft werden, weshalb in einem zweiten Versuch das 10% Palladium auf Aktivkohle anstatt von der Firma *Alfa Aesar* von der Firma *ABCR* bezogen wurde. Weiterhin wurde die Katalysatormenge erhöht (0.73 Äq.), um einen schnelleren Ablauf der Reaktion zu gewährleisten. Lange Reaktionszeiten begünstigten ein generelles Risiko der Zersetzung oder der Bildung von

Nebenprodukten aus dem primären Amin **77**. In der Tat war nach 1 h ein vollständiger Umsatz erreicht, jedoch war erneut eine vollständige Zersetzung das Ergebnis (Tab. 4.3, Eintrag 2).

In einem dritten Versuch sollten die modifizierten Bedingungen (vgl. 4.8.1.1) für die hydrogenolytische Abspaltung der *N*-Cbz-Gruppe des Substrats **170** angewendet werden, wobei auf *iso*-Propanol als Lösungsmittel ausgewichen wurde. Der Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle wurde aufgrund des Kostenfaktors jedoch zunächst beibehalten. Wie erwartet resultierte mit 3 h eine längere Reaktionszeit und es wurde mehrmals Katalysator (4 x 0.37 Äq.) hinzugefügt. Das Ergebnis dieser Transformation unterschied sich jedoch nicht von den vorherigen beiden Versuchen (Tab. 4.3, Eintrag 3).

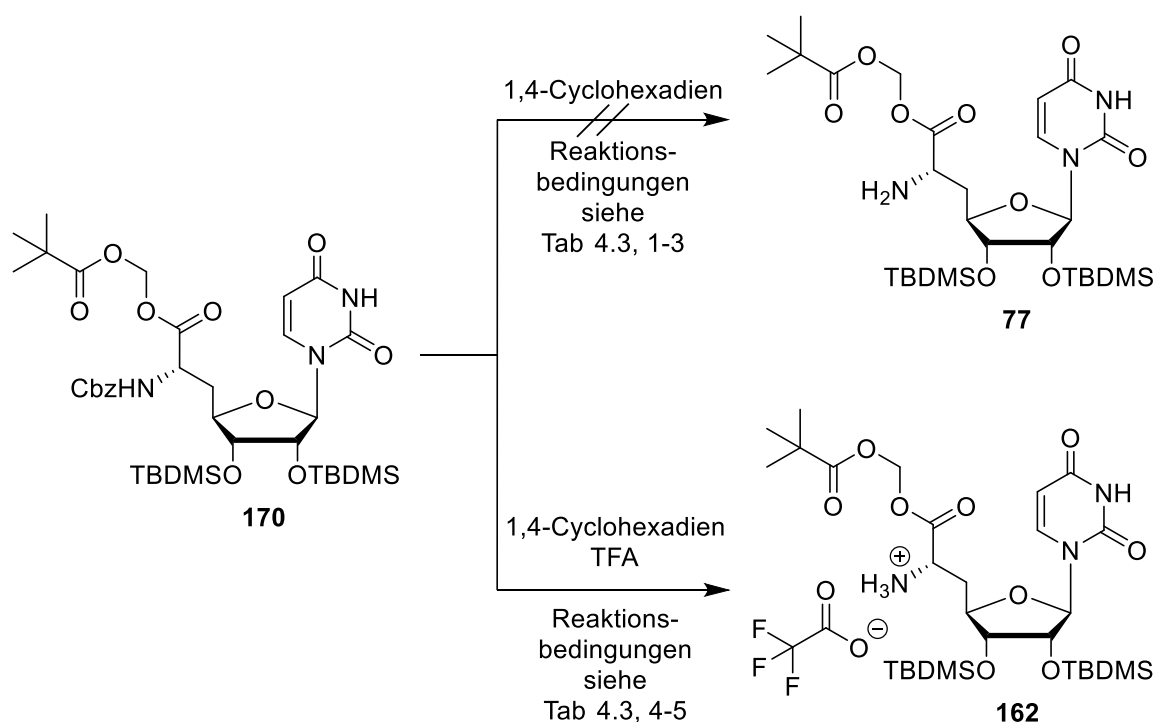


Abb. 4.31 Synthesestudien zur (6'*S*)-konfigurierten POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162**.

Tab. 4.3 Reaktionsbedingungen zur Synthese der Nucleosyl-Aminosäure **162**.

Eintrag	Firma	Katalysator	Kat. Äq.	Lösungsmittel	Zeit	Ergebnis
1	Alfa Aesar	10% Pd/C	0.18	MeOH	5 h	Zersetzung
2	ABCR	10% Pd/C	0.73	MeOH	1 h	Zersetzung
3	ABCR	10% Pd/C	4 x 0.37	<i>i</i> -PrOH	3 h	Zersetzung
4	ABCR	10% Pd/C	8 x 0.37	<i>i</i> -PrOH	4 h	162 : quant.
5	Sigma Aldrich	Pd Black	1.36	<i>i</i> -PrOH	1 h	162 : quant.

Im Vergleich mit der Darstellung der 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** konnte anhand vorliegender Studien somit gezeigt werden, dass interessanterweise weder der Katalysator noch das Lösungsmittel für die Zersetzung während der Reaktion zum primären Amin **77** verantwortlich waren, es sich also um ein intrinsisches Problem handelte. Die plausibelste Erklärung war, dass es zu einer Reaktion des bei der Entschützung entstehenden freienamins mit dem Pivaloyloxymethyl-(POM)-Rest kam, an die sich eine weiterführende Zersetzung anschloss. Um folglich das entstehende freie Amin **77** als nucleophile Spezies zu deaktivieren, sollte dieses als TFA-Salz abgefangen werden, bevor es weiterreagieren konnte. Dabei fand eine bereits an der 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **163** getestete Darstellung des TFA-Salzes **167** (vgl. Kapitel 4.8.1.2) Anwendung um das TFA-Salz der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** zu generieren. In einer weiteren Entschützung der *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **170** wurde der Reaktion ein Äquivalent TFA hinzugesetzt. Beginnend mit 10% Palladium auf Aktivkohle (0.37 Äq.) wurde über 4 h jede halbe Stunde erneut dieselbe Menge des Katalysators hinzugegeben bis ein vollständiger Umsatz erreicht war. Auf diese Weise konnte das TFA-Salz der Nucleosyl-Aminosäure **162** in quantitativer Ausbeute und exzellenter Reinheit isoliert werden (Abb. 4.31, Tab. 4.3, Eintrag 4). Im großen Ansatz verlängerte sich die Reaktionszeit dieser Umsetzung auf 24 h.

Um auch hier die Reaktionszeit erneut zu verkürzen, wurde in einem letzten Ansatz der Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle durch Palladium Black ersetzt (vgl. Kapitel 4.8.1.2) und bei gleichbleibender Reaktionsführung nach 1 h die (6'*S*)-konfigurierte 5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** in quantitativer Ausbeute erhalten (Tab. 4.3, Eintrag 5). Auch hier reichten im größeren Maßstab bedeutend kleinere Mengen des Katalysators Palladium Black im Vergleich zum eingesetzten Substrat für eine erfolgreiche Umsetzung aus. Die POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** konnte auf diesem Wege ausgehend von Uridin **1** in einer Gesamtausbeute von 48% über 6 Stufen dargestellt werden.

4.8.2 Synthese der (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171**

Für die Glycosylierung von (5'*S*,6'*S*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren zu naturstoffanalogen 5'-aminoribosylierten Muraymycinen sollte in vorliegender Arbeit eine neue Strategie entwickelt werden (vgl. Kapitel 4.12.1). Dabei sollten verschiedene Glycosyl-Donoren (vgl. Kapitel 4.5) untersucht werden, da die von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern entwickelte Methode^[124] mit der starken Lewis-Säure Bortrifluorid-Diethylether-Komplex

($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) zu harsch für das in der Arbeitsgruppe Ducho vorliegende Schutzgruppenmuster der entsprechenden Nucleosyl-Aminosäuren war. Da die naturstoffanaloge (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** synthetisch schwerer zugänglich war (11 Stufen von Uridin, vgl. Kapitel 4.8.3.1, Abb. 4.34), sollten erste Modellversuche anhand der synthetisch leichter zugänglichen, nur in der Konfiguration unterschiedlichen (5'S,6'R)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171** (6 Stufen von Uridin) durchgeführt werden. Die Synthese dieser Verbindung war in der Arbeitsgruppe bereits durchgeführt worden und sollte an dieser Stelle nachvollzogen und gegebenenfalls optimiert werden.^[138]

Erneut vom Uridin-5'-Aldehyd **35** ausgehend, sollte sich an einer literaturbekannten Strategie von Sarabia und Mitarbeitern zum stereoselektiven Aufbau von *trans*-Epoxiden mit Schwefel-Yliden bedient werden, die bereits an Uridin-abgeleiteten Aldehyden durchgeführt worden war.^[136,137,197–201] Anhand röntgenkristallographischer Untersuchungen konnten Ducho und Mitarbeiter im Jahr 2010 die von Sarabia postulierte (5'S,6'R)-Konfiguration widerlegen. Bei den gebildeten *trans*-Epoxiden handelte es sich um die (5'R,6'S)-Diastereomere.^[133]

Für die Synthese des Epoxy-*tert*-butylesters **104** wurde zunächst aus dem in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellten *tert*-Butylester-Sulfonium-Salz **120**^[174] das entsprechende Schwefel-Ylid **173** generiert, welches nach anschließender Isolierung zeitnah mit dem Uridin-5'-Aldehyd **35** zur Reaktion gebracht wurde (Abb. 4.32). Zur Generierung des

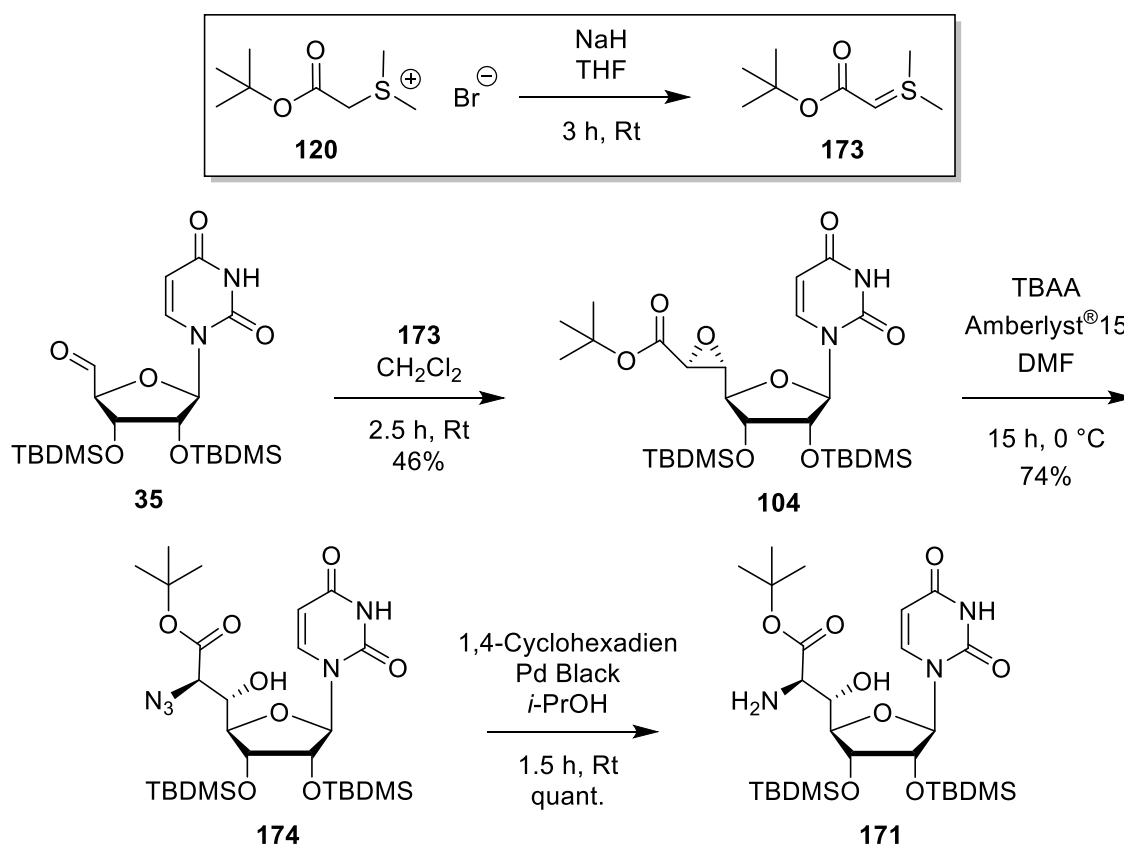


Abb. 4.32 Synthese der (5'S,6'R)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171**.

Schwefel-Ylids **173** wurde das *tert*-Butylester-Sulfonium-Salz **120** (5.0 Äq.) in Tetrahydrofuran suspendiert und mit Natriumhydrid (5.5 Äq.) über eine Reaktionszeit von 3 h umgesetzt, wobei sich die großen Überschüsse bezogen auf den Uridin-5'-Aldehyd **35** nach mehreren Reaktionsansätzen etabliert hatten. Bei diesen wurde jeweils mit etwas weniger *tert*-Butylester-Sulfonium-Salz **120** (3.0 Äq.) und Natriumhydrid (3.0 Äq.) gearbeitet, wobei allerdings nur unzureichende Mengen an Schwefel-Ylid **173** generiert werden konnten. Außerdem stellte sich das vorherige Pulverisieren des Salzes **120** und ein anschließendes Trocknen in Tetrahydrofuran über Molekularsieb (4 Å) für 12 h als erforderlich heraus, um einen möglichst vollständigen Umsatz des *tert*-Butylester-Sulfonium-Salzes **120** zum Ylid **173** zu gewährleisten. Auf eine analytische Charakterisierung desselben wurde verzichtet, da die instabile Verbindung in der Arbeitsgruppe Ducho schon früher erfolgreich synthetisiert, analysiert und für die Schwefel-Ylid-Reaktion eingesetzt worden war.^[174] Die anschließende Umsetzung mit dem Uridin-5'-Aldehyd **35** erfolgte in Dichlormethan bei einer Temperatur von 0 °C über einen Zeitraum von 2.5 h (Abb. 4.32). Mit fortschreitender Reaktionszeit konnte ein signifikanter Anstieg von entstehenden Nebenprodukten aufgrund der partiellen Zersetzung des instabilen Aldehyds **35** bei sinkender Produktbildung beobachtet werden. Da sich die entstehenden Nebenprodukte durch eine säulenchromatographische Reinigung nicht vollständig entfernen ließen, wurde die Reaktionszeit zu Gunsten der Reinheit des Epoxy-*tert*-butylesters **104** mit 2.5 h relativ kurz gehalten. Dies führte zu einer moderaten Ausbeute von 46%, wobei Verbindung **104** in exzellenter Reinheit >95% und hervorragender Diastereoselektivität (*d.r.* > 95:5) dargestellt werden konnte.

Die anschließende Epoxid-Öffnung wurde mit Natriumazid erzielt. Dazu war in der Arbeitsgruppe Ducho zuvor bereits eine Strategie zur regio- und diastereoselektiven Epoxid-Öffnung mit Alkalimetallhalogeniden im sauren Milieu^[202] auf Azide übertragen worden.^[138] Der Epoxy-*tert*-butylester **104** wurde in *N,N*-Dimethylformamid bei einer Temperatur von 0 °C mit Amberlyst® 15 und Tetrabutylammoniumazid (3.0 Äq.) versetzt und anschließend für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Der *tert*-Butylester-geschützte Azidoalkohol **174** konnte auf diese Weise in einer guten Ausbeute von 74% dargestellt werden (Abb. 4.32). Dass es sich bei der Reaktion um eine S_N2-artige regioselektive Epoxid-Öffnung durch das Azid-Ion in 6'-Position handelte, die zum (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Azid **174** führte, wurde von Ducho und Mitarbeitern mittels intensiver NMR-spektroskopischer Untersuchungen unter Berücksichtigung der Konfiguration des Epoxids **104** belegt.^[138]

Um abschließend die (5'*S*,6'*R*)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **171** zu erhalten, wurde das Azid **174** hydrogenolytisch reduziert. Auch hier konnte bei ähnlichen Hydrierungen im

Lösungsmittel Methanol die nicht vernachlässigbare Bildung von Nebenprodukten festgestellt werden (vgl. Kapitel 4.8.1.1). Für die Reaktion wurde der *tert*-Butylester-geschützte Azidoalkohol **174** in abs. *iso*-Propanol mit 1,4-Cyclohexadien (9.5 Äq.) und 10% Palladium auf Aktivkohle (0.4 Äq.) versetzt und innerhalb einer Reaktionszeit von 8.5 h bei Raumtemperatur zum primären Amin **171** reduziert. Das reine Produkt konnte auf diese Weise in einer exzellenten Ausbeute von 99% dargestellt werden. Auch hier wurde zum Vergleich in einem zweiten Versuch der Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle durch Palladium Black ersetzt. Eine Verkürzung der Reaktionszeit auf 1.5 h bei quantitativer Ausbeute war das Ergebnis (Abb. 4.32), welches aufgrund der bisher gemachten Erfahrungen erwartet worden war und erneut den Vorteil von Palladium Black gegenüber 10% Palladium auf Aktivkohle aufzeigte. Die Synthese der (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171** konnte somit auf diesem Wege nachvollzogen und optimiert werden, wobei eine Gesamtausbeute von 25% über vier Stufen ausgehend von Uridin **1** resultierte.

4.8.3 Synthese der (5'*S*,6'*S*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren

Schließlich sollte für die Entwicklung einer neuer Strategie der Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion von Muraymycinen (vgl. Kapitel 4.12.1) mit verschiedenen Glycosyl-Donoren (vgl. Kapitel 4.5) auch eine naturstoffanaloge (5'*S*,6'*S*)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **172** (Abb. 4.34) als Glycosyl-Akzeptor dargestellt werden. Dabei sollte auch einer wesentlich ausgeprägteren Instabilität dieser (5'*S*,6'*S*)-Diastereome im Vergleich zu den entsprechenden 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren auf den Grund gegangen werden. Bereits zuvor konnte in der Arbeitsgruppe Ducho festgestellt werden, dass reduktive Aminierungen mit der (5'*S*,6'*S*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** nicht zu erzielen waren.^[132,174] Dafür wurde ein Zusammenspiel aus primärem Amin in 6'-Position, dem Alkohol in 5'-Position (formal ein β -Hydroxy-Aminosäure-Motiv) und der Doppelbindung der Nucleobase verantwortlich gemacht. Aus diesem Grund wurde die Nucleobasen-hydrierte (5'*S*,6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure **175** (vgl. Kapitel 4.8.3.3, Abb. 4.36) für weitere Untersuchungen der reduktiven Aminierung (vgl. Kapitel 4.12.2) generiert. Um die Stabilität besagter Nucleosyl-Aminosäure **172** als solche zu untersuchen, wurde andererseits das entsprechende (5'*S*,6'*S*)-TFA-Salz **176** (vgl. Kapitel 4.8.3.2, Abb. 4.35) dargestellt. Im Folgenden ist die Synthese dieser Analoga aufgeführt.

4.8.3.1 Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172**

In der Arbeitsgruppe Ducho war die Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** bereits durchgeführt worden.^[132,133,173] Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte die Synthese nachvollzogen und gegebenenfalls optimiert werden, um ausreichende Mengen dieses Akzeptors für spätere Glycosylierungsstudien der 5'-Hydroxy-Funktion zur Einführung der Aminoribose-Einheit hin zu naturstoffanalogen Muraymycinen bereitstellen zu können. Als Ausgangsmaterial für die zugrunde liegende Synthese sollte erneut der Uridin-5'-Aldehyd **35** verwendet werden. Ähnlich wie zuvor bei der Darstellung der (5'S,6'R)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171** (vgl. Kapitel 4.8.2) wurde sich eine von Sarabia und Mitarbeitern entwickelte Schwefel-Ylid-Reaktion zunutze gemacht.^[136,137,197–201] Zur Synthese des Epoxy-Indolinamids **34** wurde das Sulfonium-Salz **36** (1.1 Äq.) in leichtem Überschuss bei einer Temperatur von 0 °C zu einer Lösung des Uridin-5'-Aldehyds **35** in Dichlormethan gegeben (Abb. 4.33). Die Reaktionsmischung wurde mit Natriumhydroxidlösung versetzt, was zu einer Deprotonierung in α -Stellung zur Amid-Funktion des Sulfonium-Salzes **36** und somit zur *in situ*-Generierung des entsprechenden Schwefel-Ylides führte. Dessen nachfolgende Reaktion mit dem Aldehyd **35** lieferte hochstereoselektiv das (5'R,6'S)-*trans*-Epoxid **34**. Für diese Reaktion konnten sowohl im kleinen (150 mg) als auch im großen Maßstab (~2.0 g) vergleichbare Ausbeuten von 75% erzielt werden. Dabei konnte festgestellt werden, dass längere Reaktionszeiten einer Erhöhung der Ausbeute zuträglich waren.

Im nächsten Schritt wurde der Oxiranring des Epoxy-Indolinamids **34** regioselektiv geöffnet und auf diese Weise das Bromid **177** generiert (Abb. 4.34). Die regio- und diastereoselektive Epoxid-Öffnung ließ sich wie auf die Azide auch auf die Halogenide übertragen.^[132,133] Dazu wurde eine Lösung des Epoxids **34** in Dichlormethan mit Tetrabutylammoniumbromid (4.0 Äq.) und Amberlyst® 15 (3.0 Äq.) versetzt. Das gewünschte Bromid **177** wurde nach 28 h bei Raumtemperatur zunächst in einem kleinen Ansatz in einer guten Ausbeute von 72% erhalten, wobei sich herausstellte, dass die Ausbeute im großen Maßstab (~1.8 g) mit 57% geringer war. Auch in diesem Fall wurde ein Einfluss der Reaktionszeit in einem wiederum relativ großen Maßstab (~1.0 g) überprüft und diese auf fast das Doppelte (48 h) verlängert. Dies führte jedoch zu weiteren Einbußen in der Ausbeute, die nur noch 33% betrug und der Bildung von Zersetzungs- und Nebenprodukten, die nicht genauer identifiziert werden konnten. Bei längeren Reaktionszeiten scheint somit die Anwesenheit von großen Mengen des nucleophilen Bromids, erzeugt durch den Überschuss an Tetrabutylammoniumbromid (4.0 Äq.), ungünstig zu sein und zu Zersetzungsreaktionen zu führen. Daher wurden in diesem

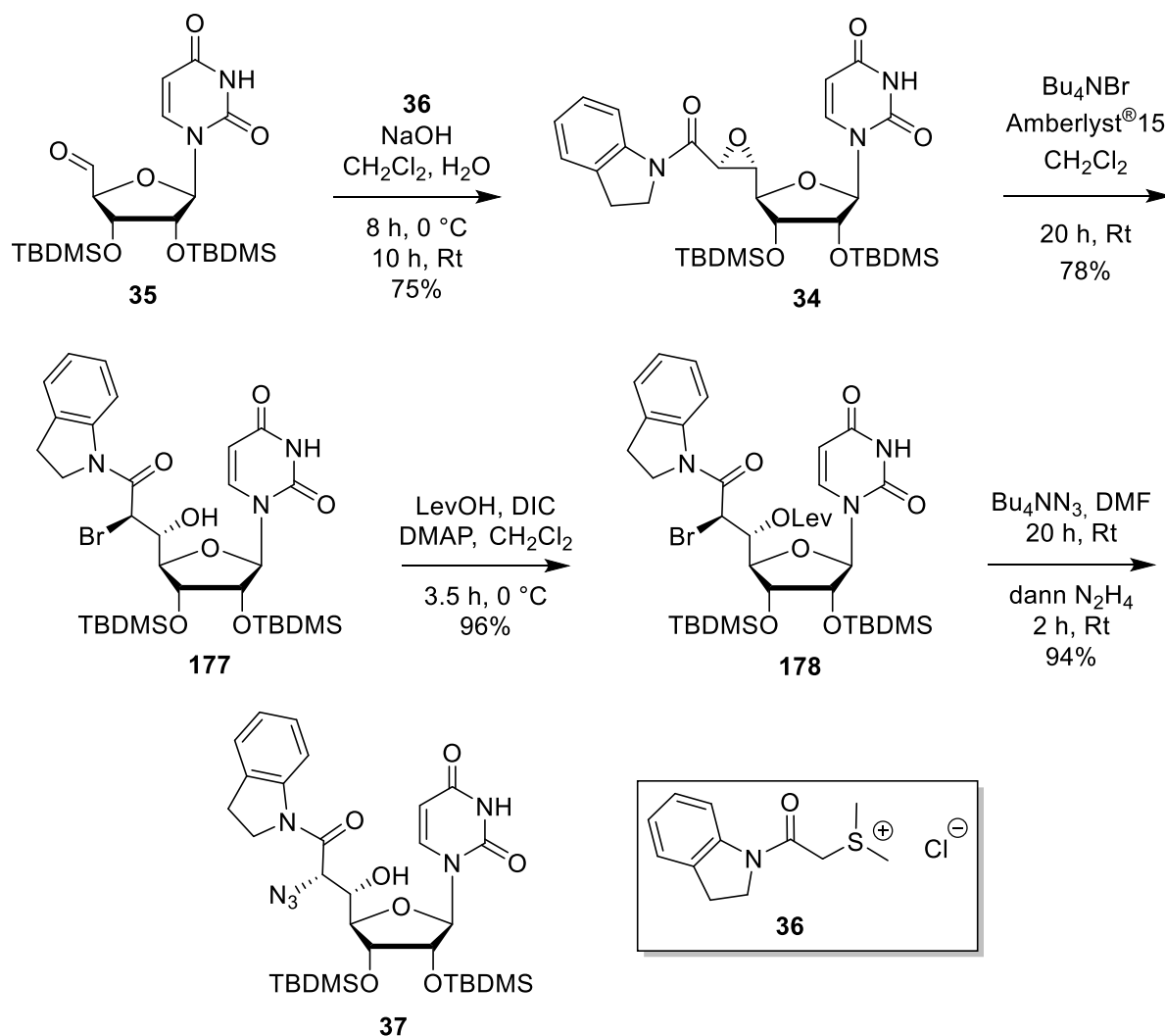


Abb. 4.33 Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten Azids **37**.

Zusammenhang noch einmal kürzere Reaktionszeiten untersucht. In einem mittelgroßen Maßstab (~300 mg) konnte daraufhin bei einer Reaktionszeit von 20 h das beste Resultat erzielt werden und das Bromid **177** in einer sehr guten Ausbeute von 78% isoliert werden.

Um die naturstoffanalogue (5'S,6'S)-Konfiguration der Muraymycine zu generieren, sollte die stereochemische Konfiguration des Bromids **177** in 6'-Position invertiert werden. Dabei wurde das (6'*R*)-konfigurierte Bromid **177** im Zuge einer S_N2-Reaktion in das entsprechende (6'*S*)-konfigurierte Azid **37** überführt. Um die zuvor aufgrund einer Epoxid-Rückbildung durch einen intramolekularen Angriff der 5'-Hydroxy-Gruppe in der Arbeitsgruppe Ducho beobachtete Bildung von 6'-Epimeren zu unterbinden, sollte die sekundäre Alkohol-Einheit zunächst als Lävulinsäureester geschützt werden.^[132,133] Daher wurden zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von Lävulinsäure (2.5 Äq.) zur Aktivierung der Carboxyl-Gruppe *N,N*-Diisopropylcarbodiimid (2.5 Äq.) und 4-(Dimethylamino)-pyridin (2.5 Äq.) gegeben und anschließend das Bromid **177** hinzugefügt. Nach 3 h bei 0 °C konnte das Lävuliny-

geschützte Bromid **178** in einer exzellenten Ausbeute von 94% erhalten werden (Abb. 4.33). Jedoch ging mit einer Vergrößerung des gewählten Ansatzes (~1.2 g) auch eine Verringerung der Ausbeute auf 74% einher, wofür die deutlich längeren Zeiten für die Reinigung des in der Rohmischung instabilen Produktes **178** verantwortlich gemacht wurden. Dieses Phänomen war von Ducho und Mitarbeitern bereits in früheren Arbeiten beobachtet worden.^[174] Indem die Lösungsmittelmengen in der wässrigen Aufarbeitung und die eingesetzte Eduktmenge auf einen mittelgroßen Ansatz (~600 mg) verkleinert wurden, konnte die Verweilzeit des Lävulinyl-geschützten Bromids **178** in der Rohmischung signifikant verkürzt werden. Eine breitere Kieselgelsäule bei gleichbleibender Kieselgelmenge trug zu einer weiteren Beschleunigung der Reinigung bei, ohne die Reinheit der isolierten Zielverbindung zu verschlechtern. Auf diese Weise konnte das Bromid **178** auch im etwas größeren Maßstab in einer sehr guten Ausbeute von 96% erhalten werden.

Anschließend wurde in einem Eintopfverfahren das (5'S,6'S)-konfigurierte Azid **37** dargestellt. Im Rahmen dieser Strategie wurde zunächst in einer S_N2-Reaktion das Azid eingeführt und dann die 5'-Hydroxy-Gruppe entschützt (Abb. 4.33). Hierfür wurde eine Lösung des Lävulinyl-geschützten Bromids **178** in *N,N*-Dimethylformamid mit Tetrabutylammoniumazid (4.0 Äq.) versetzt, was innerhalb von 16 h bei Raumtemperatur zur Substitution des Bromid-Ions durch das Azid-Ion führte. Anschließend wurde Hydrazinacetat (3.0 Äq.) in Methanol hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt, was in der Abspaltung der Lävulinyl-Schutzgruppe resultierte. Das (5'S,6'S)-konfigurierte Azido-Indolinamid **37** wurde in einer sehr guten Ausbeute von 85% erhalten. Diese konnte durch längere Reaktionszeiten von 20 h im Substitutionsschritt und 2 h im Abspaltungsschritt sowohl im kleinen Maßstab (100 mg) als auch im großen Maßstab (~1.0 g) sogar noch auf exzellente 94% verbessert werden.

In den nachfolgenden Schritten dieser Route sollte das Indolinamid in den entsprechenden *tert*-Butylester überführt werden. Über drei Stufen wurde dazu zunächst das Indolin- zum Indol-Derivat oxidiert, welches dann mit Lithiumhydroxid hydrolysiert wurde. Daraufhin wurde die resultierende Carboxyl-Funktion als *tert*-Butyl-Ester geschützt.^[132,133] Zunächst wurde das Azid **37** in einer Mischung aus Benzol und Acetonitril (1:1) gelöst und mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) (5.0 Äq.) innerhalb von 3 d bei einer Temperatur von 80 °C oxidiert (Abb. 4.34). Das Azido-Indolamid **179** konnte dabei in einer guten Ausbeute von 73% erhalten werden. Die Ausbeute konnte im mittelgroßen Maßstab (~600 mg) auf 78% gesteigert und im noch größeren Maßstab (~850 mg) mit einer etwas verlängerten Reaktionszeit von 3.5 d sogar noch auf sehr gute 90% verbessert werden.

Erwähnt werden sollte hierbei, dass bei letzterer Reaktion eine höhere Verdünnung des Substrats im Lösungsmittelgemisch vorlag und die Reaktion daher möglicherweise kontrollierter ablief.

Die folgende zweistufige Umschüttung zum *tert*-Butylester lieferte schon in Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho nur moderate Ausbeuten.^[173,174] Dabei wurde nicht die basische Hydrolyse des Indol-Derivats **179** als problematisch identifiziert, sondern vielmehr die anschließende Veresterung zum *tert*-Butylester. Das Indol-geschützte Azid **179** wurde in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel mit 0.1 M Lithiumhydroxidlösung (2.0 Äq.) versetzt und nach 1 h bei Raumtemperatur wässrig aufgearbeitet. Diese Vorgehensweise wurde noch einmal dahingehend modifiziert, dass 45 min nach der ersten Zugabe noch einmal 0.1 M Lithiumhydroxidlösung (0.9 Äq.) hinzugegeben und weitere 30 min gerührt wurde. Damit wurde sichergestellt, dass das gesamte Substrat **179** in die freie Säure überführt wurde. Die resultierende Carbonsäure wurde unverzüglich in Dichlormethan gelöst und die Reaktionslösung mit *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (5.0 Äq.) versetzt (Abb. 4.34). Die *tert*-Butyl-Gruppe dieses Imidates wurde dabei auf die Carboxyl-Funktion übertragen. Dabei verlief die Umsetzung zum gewünschten *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohol **180** sehr langsam. Da nach 4 d kein weiterer Fortschritt der Reaktion zu beobachten war und des Weiteren verbliebenes Edukt identifiziert werden konnte, wurde nach 5 d erneut *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (5.0 Äq.) hinzugefügt. Nach 7 d wurde die Reaktion beendet und der *tert*-Butylester-geschützte Azidoalkohol **180** unabhängig von der Größe des gewählten Reaktionsansatzes in einer mäßigen Ausbeute von 37% erhalten. Durch eine längere Reaktionszeit von 11 d, wobei in kürzeren Abständen nach 3 d und nach 7 d *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (5.0 Äq.) hinzugefügt wurde, konnte die Ausbeute schließlich auf moderate 46% gesteigert werden (Abb. 4.34). Bei weiterer Verlängerung der Reaktionszeit und einer Menge an *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat größer als 15 Äq. wurden die Ausbeuten wieder schlechter, was eventuell auf den Zerfall des eingesetzten Trichloracetimidats zurückzuführen war. Dies führte vermutlich zu Nebenreaktionen und Zersetzung von Resten der eingesetzten freien Säure sowie des entstehenden Produkts **180**.

Im abschließenden Schritt wurde das Azid **180** hydrogenolytisch in das Amin **172** überführt (Abb. 4.34). Dabei wurde sich zunächst an den in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Bedingungen orientiert, für die, da auf eine wässrige Aufarbeitung verzichtet wurde, meistens exzellente Ausbeuten bei üblicherweise quantitativem Umsatz erzielt werden konnten. Im ersten Versuch wurde das Azid **180** in Methanol mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und 10%

Palladium auf Aktivkohle (0.3 Äq.) versetzt. Nach 7 h bei Raumtemperatur konnte jedoch kein Umsatz beobachtet und nur das Azid **180** reisoliert werden (Tab. 4.4, Eintrag 1).

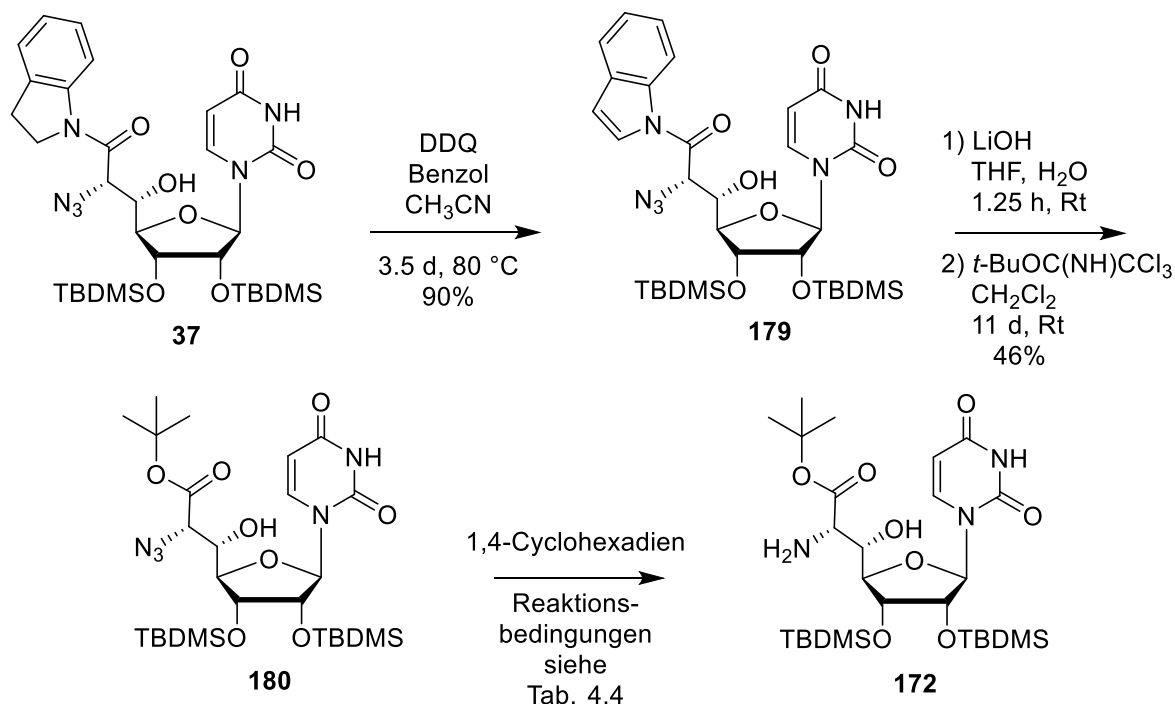


Abb. 4.34 Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172**.

Tab. 4.4 Reaktionsbedingungen zur Synthese der Nucleosyl-Aminosäure **172**.

Eintrag	Katalysator	Kat. Äq.	Zusatz	Lösungsmittel	Zeit	Ergebnis
1	10% Pd/C	0.30	--	MeOH	7 h	180 : quant.
2	10% Pd/C	3.00	--	MeOH	3 h	Zersetzung
3	10% Pd/C	0.59	Molsieb 3 Å	MeOH	4 h	172 : 94% ^a
4	10% Pd/C	6 x 0.30	--	<i>i</i> -PrOH	6 h	172 : leicht verunreinigt
5	Pd Black	3.5	--	<i>i</i> -PrOH	1 h	172 : quant.

a: nicht reproduzierbar im größeren Maßstab

Daher wurde in einem zweiten Versuch eine größere Menge des Katalysators 10% Palladium auf Aktivkohle (3.0 Äq.) eingesetzt. Diese Reaktion resultierte jedoch in einem Gemisch aus Zersetzungsprodukten (Tab. 4.4, Eintrag 2). Eine Zersetzung konnte zuvor auch bei der Generierung der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** beobachtet werden, wenn diese Reaktion in Methanol durchgeführt wurde. Ein analoges Nebenprodukt zum dort entstandenen Cyclisierungsprodukt **164** (vgl. Kapitel 4.8.1.1) konnte hier jedoch nicht explizit identifiziert werden. Dies war vor dem Hintergrund der weitaus größeren Instabilität der Nucleosyl-Aminosäure **172** unter schwach basischen und schwach sauren

Bedingungen aufgrund der zusätzlichen Hydroxy-Gruppe nicht verwunderlich. So wurde vermutet, dass das generierte Amin **172** bei der Reaktion mit während der Reaktionszeit generiertem Formaldehyd weitaus komplexere Zersetzungsreaktionen durchlief.

Neben diesen bereits zuvor gemachten Erfahrungen, die sich hier noch einmal bestätigten, war jedoch auch bekannt, dass das Katalysator-System 10% Palladium auf Aktivkohle je nach Charge unterschiedliche Mengen an Chlorwasserstoff als Verunreinigung enthalten kann. Spuren einer Säure, die auf diese Weise in die Reaktionslösung gelangten, würden ebenfalls eine Zersetzung des instabilen Amins **172** begünstigen. Um diesen Einfluss zu klären, wurden in einem dritten Versuch unter gleichbleibenden Reaktionsbedingungen zunächst 1,4-Cyclohexadien und der Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle für 1 h in Methanol gerührt. Dabei wurde frisch aktiviertes Molekularsieb (3 Å) hinzugegeben, um den eventuell vorhandenen Chlorwasserstoff aus der Reaktionsmischung zu entfernen. Anschließend wurde das Azid **180** in einem kleinen Ansatz (10 mg) hinzugegeben und auf diese Weise die *tert*-Butylester-geschützte (5'*S*,6'*S*)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **172** nach 4 h bei Raumtemperatur in einer Ausbeute von 94% erhalten (Tab. 4.4, Eintrag 3). Eine Reproduzierbarkeit blieb jedoch aus, denn sobald der Ansatz nur minimal vergrößert wurde (20 mg), konnte das gewünschte Produkt **172** erneut nur als Minderkomponente neben einer Mischung von Zersetzungsprodukten erhalten werden. Ein weiterer Zusammenhang der Zersetzung des primären Amins **172** mit dem Katalysator konnte somit nicht hergestellt werden.

Daher wurde in einem vierten Ansatz die Problematik bezüglich der Bildung von Formaldehyd aus dem Lösungsmittel Methanol genauer beleuchtet. Aus diesem Grunde wurde Methanol durch *iso*-Propanol ersetzt, um auf diese Weise die Bildung eines cyclisierten Nebenproduktes beziehungsweise einen Zerfalls des entstehenden primären Amins **172** zu verhindern (vgl. Kapitel 4.8.1.1). Das Reaktionsgemisch wurde unter gleichbleibender Reaktionsführung über einen Zeitraum von 6 h stündlich mit 10% Palladium auf Aktivkohle (0.3 Äq.) versetzt, bis ein vollständiger Umsatz erreicht war. Auf diese Weise konnte die (5'*S*,6'*S*)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **172** leicht verunreinigt erhalten werden, weshalb an dieser Stelle keine genaue Ausbeute angegeben werden konnte (Tab. 4.4, Eintrag 4). Hierfür wurde die mit 6 h relativ lange Reaktionszeit und eine damit einhergehende Zersetzung verantwortlich gemacht, denn die (5'*S*,6'*S*)-konfigurierte Zielverbindung war aufgrund der zusätzlichen Hydroxy-Gruppe weitaus instabiler als beispielsweise die 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43**.

Abschließend wurde in einem letzten Versuch der Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle durch Palladium Black ersetzt. Wie zuvor (vgl. Kapitel 4.8.1.1) führte dies zu einer starken Verkürzung der Reaktionszeit auf 1 h und zu einer Generierung der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** in quantitativer Ausbeute und exzellenter Reinheit (Tab. 4.4, Eintrag 5). Auch hier reichten im größeren Maßstab bedeutend kleinere Mengen des Katalysators Palladium Black im Vergleich zum eingesetzten Substrat für eine erfolgreiche Umsetzung aus. Mithilfe der in dieser Arbeit optimierten Bedingungen für die hydrogenolytische *N*-Cbz-Abspaltung (vgl. Kapitel 4.8.1.1) konnte somit auch eine effektive Methode für die Azid-Reduktion entwickelt werden. Die Syntheseroute zur (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** konnte auf diese Weise nachvollzogen und optimiert werden. Die Zielverbindung **172** wurde ausgehend von Uridin **1** in einer Gesamtausbeute von 16% über 11 Stufen dargestellt.

4.8.3.2 Synthese des TFA-Salzes der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **176**

Im Zusammenhang mit der generellen Instabilität der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure sollte das TFA-Salz der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **176** dargestellt werden. Nach den optimierten Reaktionsbedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.2) wurde das Azid **180** in *iso*-Propanol mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Trifluoressigsäure (1.0 Äq.) vorgelegt und die Reaktion durch die Zugabe von Palladium Black gestartet. Nach 6 h konnte ein vollständiger Umsatz nachgewiesen werden und das TFA-Salz **176** in quantitativer Ausbeute und exzellenter Reinheit isoliert werden (Abb. 4.35). Die Darstellung

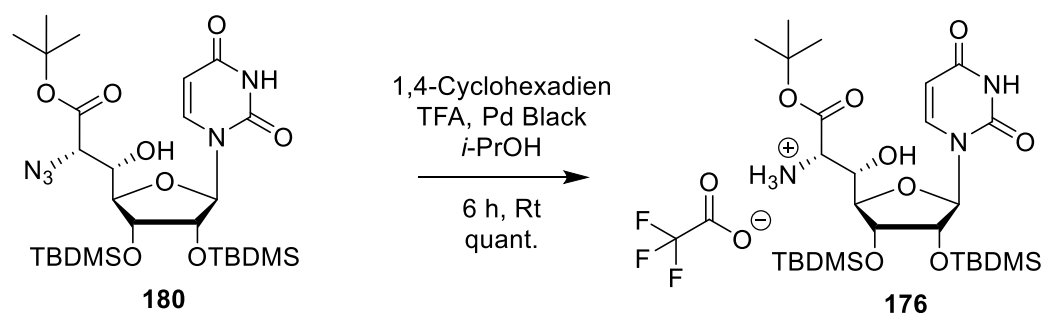


Abb. 4.35 Synthese des TFA-Salzes der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **176**.

des TFA-Salzes der instabilen Stammverbindung **172** mit deaktivierter primärer Amino-Funktion war somit ohne weiteres möglich. Anhand der längeren Lagerung der Verbindung **176** zeigte sich zudem wie erwartet auch eine größere Stabilität dieses Derivates. Dies belegte

noch einmal, dass die Instabilität zu einem großen Teil vom β -Hydroxy-Aminosäuremotiv abzuleiten war.

4.8.3.3 Synthese der Nucleobasen-hydrierten (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **175**

Anhand der Nucleobasen-hydrierten (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **175** sollte die reduktive Aminierung von (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäuren evaluiert werden, um den Einfluss einer nicht mehr aromatischen und somit nicht mehr intakten Nucleobase zu überprüfen. Hier wurde vermutet, dass ein Zusammenspiel aus primärem Amin in 6'-Position, dem Alkohol in 5'-Position (β -Hydroxy-Aminosäure-Motiv) und der Doppelbindung der Nucleobase für die Instabilität in dieser Umsetzung der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäuren im reduktiven Milieu verantwortlich war (vgl. Kapitel 4.12.2). Bereits in Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho konnte gezeigt werden, dass standardmäßige heterogene Hydrierbedingungen mit Wasserstoff und Palladium-Katalysatoren zu einer unerwünschten partiellen Hydrierung der Doppelbindung der Nucleobase führten.^[140,203] Dieses Phänomen sollte sich hier zunutze gemacht werden, um auf diese Weise die Nucleobasen-hydrierte (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **175** zu generieren. Dazu wurde das Azid **180** in *iso*-Propanol gelöst, da sich dieses Lösungsmittel im Verlauf der vorliegenden Arbeit für derartige Umsetzungen bewährt hatte. Es wurde Palladium Black im großen Überschuss (20 Äq.) hinzugegeben und zunächst 22 h gerührt, da erwartet wurde, dass die Hydrierung der Doppelbindung der Nucleobase relativ langsam ablaufen sollte. Ohne weitere Aufarbeitung konnte die Bildung des gewünschten Produktes **175** zwar gezeigt werden, jedoch war es stark mit Zersetzungsprodukten verunreinigt. Insgesamt schienen die Bedingungen mit einem derart starken Überschuss an Palladium Black zu harsch zu sein. Mit der Hälfte an Palladium Black (10 Äq.) konnte in einem zweiten Versuch nach 18 h ein besseres Ergebnis erzielt werden. Da die Zielverbindung **175** jedoch auch in diesem Fall verunreinigt war, wurde eine

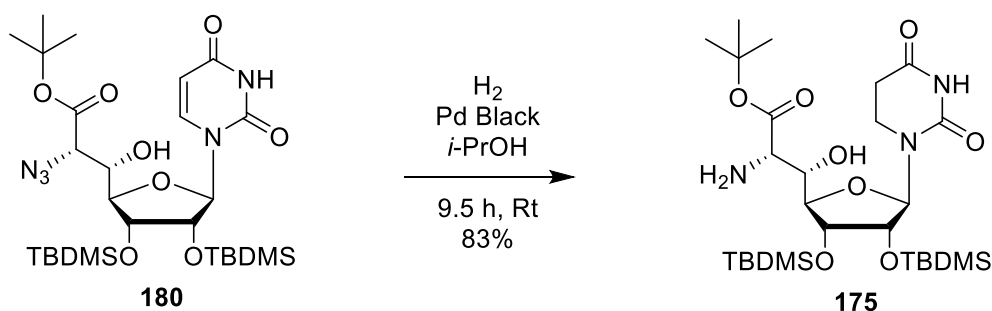


Abb. 4.36 Synthese der Nucleobasen-hydrierten (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **175**.

säulenchromatographische Reinigung erwogen. Dies wurde bisher im Falle der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **172** vermieden, da diese aufgrund der zuvor beschriebenen Instabilität nicht für eine derartige Reinigung infrage kam. In vorliegender Umsetzung stellte sich heraus, dass eine säulenchromatographische Reinigung ohne weiteres möglich war. Somit konnte an dieser Stelle gezeigt werden, dass in jedem Fall die intakte Nucleobase eine große Rolle bei der Erzeugung der Instabilität der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäuren spielt. Ob dies auch für die Umsetzung in reduktiven Aminierungen gilt, sollte später gezeigt werden (vgl. Kapitel 4.12.2).

Bei einem dritten Versuch konnte nach 9.5 h keine UV-aktive Verbindung mehr ausgemacht werden. Die Nucleobasen-hydrierte (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **175** konnte schließlich nach säulenchromatographischer Reinigung in einer sehr guten Ausbeute von 83% erhalten werden (Abb. 4.36).

4.9 Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **76 als Stamm- und Referenzverbindung sowie Entschützungsstudien**

Im Zuge der vorliegenden Arbeit sollte auch das bereits zuvor in der Arbeitsgruppe Ducho dargestellte L-Lysin-haltige nicht-aminoribosylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **76** (Abb. 4.38) synthetisiert werden. Dies sollte sowohl als Stammverbindung und somit als Referenz der in dieser Arbeit generierten Muraymycin-Prodrugs, als auch als Vergleichssubstanz für die in der vorliegenden Arbeit synthetisierten 6'-N- und N3-aminoribosylierten Muraymycin-Analoga fungieren. Außerdem sollten im Zuge der Synthese dieser Substanz Studien der abschließenden globalen sauren Entschützungsreaktion durchgeführt werden. Für diese Reaktion gab es noch keine Erfahrungswerte darüber, welche der sauer spaltbaren Silylether-, Boc-, und *tert*-Butylester-Schutzgruppen wann gespalten werden. Zudem wusste man nicht, wie lang die Reaktionszeit sein musste und welcher Anteil an Säure erforderlich war, da für diese Reaktion standardmäßig 24 h Reaktionszeit in 80% TFA in Wasser anberaumt wurden. Diese Reaktionsbedingungen führten jedoch im Verlauf der Synthese der Muraymycin-Prodrugs (vgl. Kapitel 4.10) und der über Propyllinker an 6'-N- und N3-aminoribosylierten Muraymycin-Analoga (vgl. Kapitel 4.11) zu Problemen.

4.9.1 Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **76**

Das 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **76** (Abb. 4.38) sollte sich ausgehend von der 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** in einem von Ducho und Mitarbeitern entwickelten dreiteiligen Ansatz aufbauen lassen (vgl. Kapitel 2.5.3 und Kapitel 3.1).^[79,132] Dabei sollten die beiden Schlüsselschritte eine in der Arbeitsgruppe Ducho etablierte reduktive Aminierung des primärenamins **43** mit dem *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88**, gefolgt von einer Peptidkupplung mit dem *tert*-Butylester-geschützten Harnstoffdipeptid **85** sein.^[132] Eine abschließende globale saure Entschützung sollte in der Zielverbindung **76** resultieren.

4.9.1.1 Synthese der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **181**

Nachfolgend wurde das verkürzte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **181** in einer reduktiven Aminierung dargestellt.^[132] Dazu wurde die Nucleosyl-Aminosäure **43** mit äquimolaren Mengen des *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **88** in Tetrahydrofuran umgesetzt um innerhalb von 24 h bei Raumtemperatur zunächst das entsprechende Imin zu generieren. Das bei der Reaktion freiwerdende Wasser wurde durch die Zugabe von frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt. Durch Zugabe katalytischer Mengen Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und von Natriumtriacetoxymborhydrid (2.0 Äq.) als Reduktionsmittel wurde in einem Zeitraum von weiteren 24 h das Imin zum gewünschten Amin reduziert. Auf diese Weise konnte die Zielverbindung **181** einer noch zu optimierenden Ausbeute von 59% erhalten werden. Bei weiteren Versuchen der Reproduzierbarkeit dieser Reaktion sanken die Ausbeuten jedoch stetig immer weiter bis unter 30%. Aus diesem Grund sollte weitere Arbeit in die Optimierung dieser bereits in der Vergangenheit zuweilen in schlechten Ausbeuten ablaufenden Umsetzung investiert werden. Bei genauerer Betrachtung der Reaktionsmischung konnten in dieser neben nicht identifizierbaren Zersetzungsprodukten sowohl Anteile des eingesetzten Substrats **43** sowie nicht vernachlässigbare Mengen einer doppelt alkylierten Spezies als Nebenprodukt ausgemacht werden. Diese konnten auch schon in früheren Versuchen, aber in wesentlich kleineren Mengen, beobachtet werden.^[174] Da die Reaktion hier erstmals in einem etwas größeren Maßstab (~150 mg) durchgeführt worden war, sollte zunächst überprüft werden, ob die schlechteren Ausbeuten mit der Reaktionsführung auf größerer Skala im Zusammenhang standen. Da anschließend im kleinen Maßstab (15 mg) jedoch ebenfalls nur eine Ausbeute

von 35% erreicht werden konnte, wurde dies ausgeschlossen. Im nächsten Versuch wurde die Umsetzung des generierten Imins zum sekundären Amin dünnenschichtchromatographisch verfolgt, da eine Verfolgung der Bildung desselben im ersten Teil der Reaktion nicht möglich war. Hierbei konnten nur die entsprechenden Edukte detektiert werden. Dieses Phänomen wurde auf die hohe Hydrolyselabilität sowohl des Iminium-Ions als auch des im Gleichgewicht stehenden Enamins, im Besonderen in Kontakt mit dem Kieselgel, zurückgeführt. Bei der Kontrolle der Amin-Bildung zeigte sich, dass nach 14 h noch nicht umgesetztes primäres Amin **43** vorhanden war. Deshalb wurde zunächst erneut Aldehyd **88** (0.5 Äq.) und nach weiteren 4 h noch einmal Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) hinzugefügt. Die katalytischen Mengen an Amberlyst® 15 sollten beibehalten werden, da das Milieu nicht zu sauer gemacht werden sollte. Auf diese Weise konnte zwar letztendlich das komplette Edukt **43** umgesetzt werden, jedoch wurde der Anteil der doppelt alkylierten Spezies stark erhöht, die Bildung von Zersetzungsprodukten nicht unterbunden und nur eine Ausbeute von 28% erreicht. Da bis auf die Qualität des Reduktionsmittels alle Fehlerquellen ausgeschlossen werden konnten, wurde im nächsten Versuch der Reaktion eine frische Charge von Natriumtriacetoxyborhydrid eingesetzt. Bei den etablierten Reaktionsbedingungen konnte nun eine Ausbeute von 72% des verkürzten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **181** erzielt werden, wobei die Bildung von Zersetzungs- und Nebenprodukten nahezu unterbunden werden konnte (Abb. 4.37). Als Erklärung hierfür wurde eine über die Zeit stattfindende Zersetzung des Natriumtriacetoxyborhydrids an Luft zu

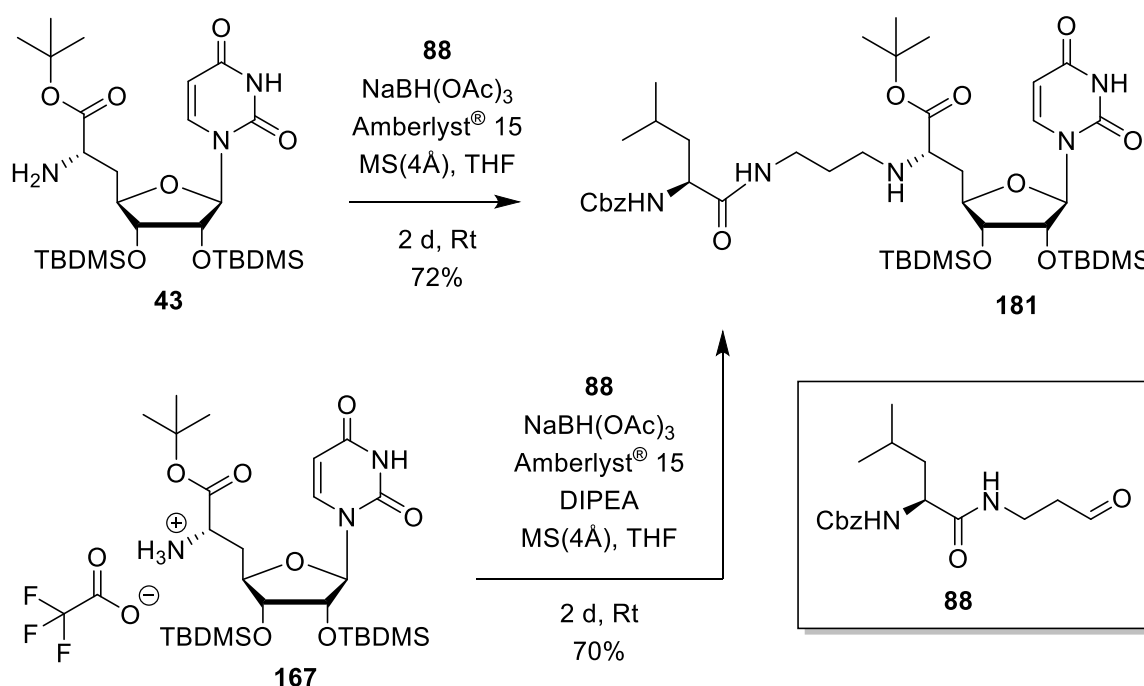


Abb. 4.37 Synthese des *N*-Cbz-geschützten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **181**.

Essigsäure angeführt, was auch einen stechenden Essiggeruch älterer Chargen dieses Reagenzes erklärte. Das Reduktionsmittel wurde daher fortan unter einer Inertgasatmosphäre gelagert und alle drei bis vier Monate eine neue Charge genutzt, wodurch die beschriebenen Probleme in dieser reduktiven Aminierung dauerhaft gelöst werden konnten.

An dieser Stelle sollte die Grundlage für die Umsetzung von TFA-Salzen in der reduktiven Aminierung geschaffen werden. Die Darstellung der Muraymycin-Prodrugs musste vom TFA-Salz der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** ausgehend erreicht werden (vgl. Kapitel 4.10.2), da sich diese Aminosäure aufgrund einer Zersetzung nicht als primäres Amin darstellen ließ. Anhand der Nucleosyl-Aminosäure **167** sollte eine derartige Umsetzung erstmals getestet werden. Obwohl die Verwendung einer schwachen Base in dieser Umsetzung logisch erschien, um das Ammonium-Salz zu deprotonieren, sollte zunächst analog unter den etablierten Bedingungen verfahren werden. Das TFA-Salz **167** wurde mit dem L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** für 24 h umgesetzt, bevor Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) hinzugegeben wurden und für weitere 24 h gerührt wurde (Tab. 4.5, Eintrag 1). Wie zu erwarten war, konnte nur eine Mischung aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten isoliert werden. Als erste Base wurde anschließend die mittelstarke organische Base Pyridin mit einem pK_b -Wert von ~ 8.8 eingesetzt. Diese wurde dabei im ersten Teil der Reaktion, der Iminbildung, im Überschuss (10 Äq.) eingesetzt. Dabei konnte jedoch keine Änderung des Reaktionsverlaufs in Bezug auf Produktbildung beobachtet werden (Tab. 4.5, Eintrag 2). In einem dritten Versuch wurde das TFA-Salz **167** zunächst 1 h in Anwesenheit von Polymer-Supported PS-DBU **108** gerührt, um das primäre Amin **43** freizusetzen. Das PS-DBU wurde abfiltriert und im weiteren Verlauf der Reaktion wurde nach den bekannten Bedingungen verfahren. Erneut konnte jedoch nur eine Mischung aus Zersetzungsprodukten isoliert werden (Tab. 4.5, Eintrag 3).

Tab. 4.5 Umsetzung des TFA-Salzes **167** in der reduktiven Aminierung.

Eintrag	Edukte	Reagenzien	Base	Äq. Base	Ergebnis
1	TFA-Salz 167 (1.0 Äq.) Aldehyd 88 (1.1 Äq.)	NaBH(OAc) ₃ (2.0 Äq.) Amberlyst® 15 (0.22 Äq.)	--	--	Zersetzung
2	TFA-Salz 167 (1.0 Äq.) Aldehyd 88 (1.1 Äq.)	NaBH(OAc) ₃ (2.0 Äq.) Amberlyst® 15 (0.22 Äq.)	Pyridin	10	Zersetzung
3	TFA-Salz 167 (1.0 Äq.) Aldehyd 88 (1.0 Äq.)	NaBH(OAc) ₃ (2.0 Äq.) Amberlyst® 15 (0.22 Äq.)	PS-DBU	1.1	Zersetzung
4	TFA-Salz 167 (1.0 Äq.) Aldehyd 88 (1.1 Äq.)	NaBH(OAc) ₃ (2.0 Äq.) Amberlyst® 15 (0.22 Äq.)	DIPEA	2.0	181 : 70%

Letztendlich führte der Einsatz der etwas stärkeren organischen Base DIPEA mit einem pK_b -Wert von ~ 3.0 im leichten Überschuss (2.0 Äq.) zum Erfolg. Diese Base erwies sich als stark genug, die Iminbildung zu gewährleisten, während im zweiten Teil der Reaktion erneut mit Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) gearbeitet wurde. Auf diese Weise konnte das verkürzte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **181** in einer sehr guten Ausbeute von 70% erhalten werden (Abb. 4.37, Tab. 4.5, Eintrag 4). Deshalb sollte diese Vorgehensweise auch bei der Darstellung der Muraymycin-Prodrugs in der reduktiven Aminierung des TFA-Salzes der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** angewendet werden (vgl. Kapitel 4.10.2).

4.9.1.2 Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 76

Nachfolgend wurde das verkürzte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **181** zunächst hydrogenolytisch *N*-Cbz-entschützt, was mithilfe der optimierten Bedingungen mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Palladium Black in *iso*-Propanol gelang (vgl. Kapitel 4.8.1.1). Ohne weitere Charakterisierung wurde der farblose Feststoff im nächsten Schlüsselschritt einer Peptidkupplung mit dem *tert*-Butyl-ester-Harnstoffdipeptid **85**, umgesetzt (Abb. 4.38).^[132] Dazu wurde das Harnstoffdipeptid **85** zunächst innerhalb von 30 min in Tetrahydrofuran unter Zugabe von 1-Hydroxy-benzotriazol (HOBt), Benzotriazol-

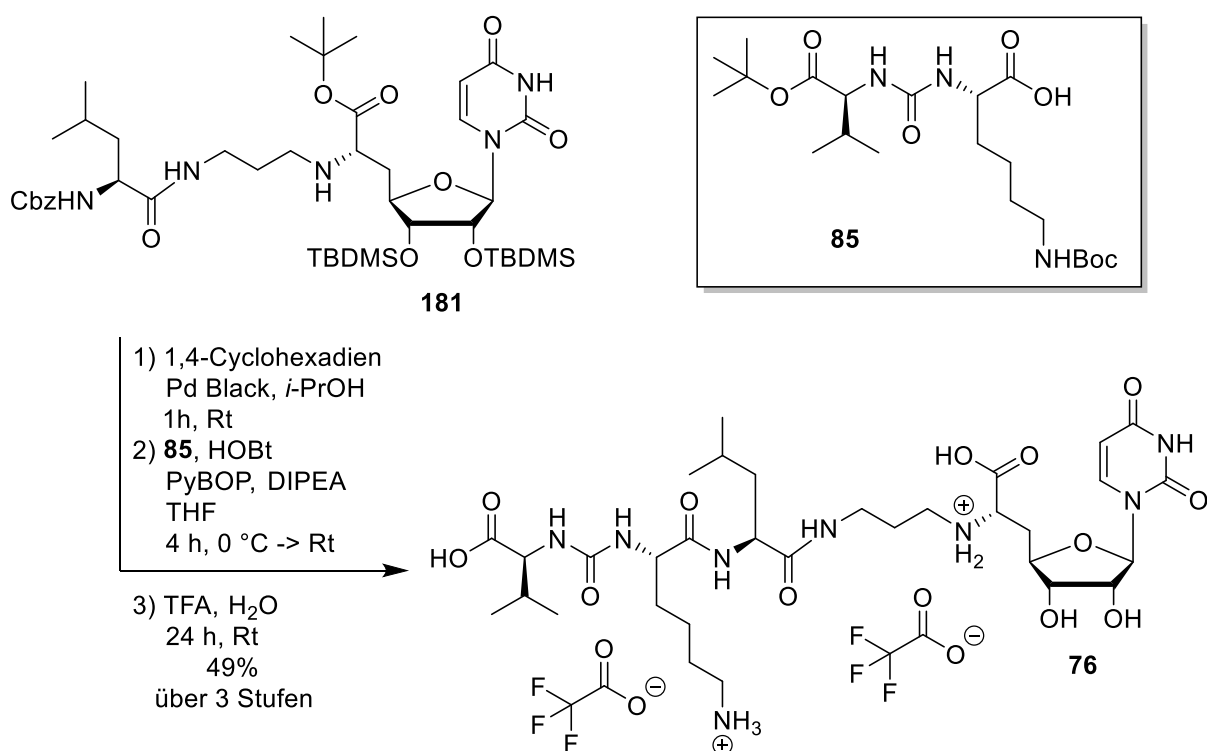


Abb. 4.38 Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **76**.

1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und DIPEA aktiviert und bei 0 °C eine Lösung des zuvor generierten primären Amins in Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur konnte das vollständig geschützte Vorläufermolekül des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons erhalten werden, was mittels massenspektrometrischer Untersuchungen zweifelsfrei nachgewiesen werden konnte. Auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung wurde aufgrund der Komplexität der Spektren verzichtet. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und des UV-Chromatogramms ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine Ausbeute von ca. 80% über 2 Stufen bestimmt. Das generierte vollständig geschützte Muraymycin wurde unmittelbar in einer globalen sauren Entschützungsreaktion umgesetzt (Abb. 4.38). Für diese Umsetzung wurden die etablierten Standardbedingungen^[127,132] angewendet. Das vollständig geschützte Muraymycin-Analogon wurde für 24 h in 80% TFA in Wasser gerührt, mit Wasser verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach HPLC-Reinigung konnte das 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **76** in einer Ausbeute von 49% über drei Synthesestufen dargestellt werden, was eine Gesamtausbeute von 15% über 10 Stufen ausgehend von Uridin **1** bedeutete. In folgenden Entschützungsstudien sollte das geschützte Vorläufermolekül genutzt werden, um herauszufinden, welche der sauer spaltbaren Silylether-Boc-, und *tert*-Butylester-Schutzgruppen wann abgespalten werden, wie lang die Reaktionszeit sein muss und welche Konzentration der Säure nötig ist.

4.9.2 Studien zur globalen sauren Entschützungsreaktion

Da die etablierten Bedingungen der globalen sauren Entschützungsreaktion mit 80% TFA in Wasser für 24 h relativ harsch sind, kam es in der Synthese der Muraymycin-Prodrugs (vgl. Kapitel 4.10) und der Synthese der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga (vgl. Kapitel 4.11) zu Problemen. Es wurde jedoch vermutet, dass die Entschützungsstrategie mit dem vorliegenden Schutzgruppenmuster auch mild sauer möglich sein sollte. Daher wurden an dieser Stelle Studien zu den Bedingungen dieser Reaktion durchgeführt. Alle im Folgenden aufgeführten Entschützungsreaktionen wurden mit Eduktmengen zwischen 10 und 30 mg durchgeführt. Durch die Synthese des Uridin-5'-Aldehyds **35** (vgl. Kapitel 4.7) ist bekannt, dass sich Tris-TBDMS-geschütztes Uridin **160** bei 0 °C mit 50% Trifluoressigsäure in Wasser partiell an der 5'-Position entschützen lässt, während die 2'- und 3'-Positionen unangetastet bleiben. Dabei trägt das eingesetzte

Lösungsmittel Tetrahydrofuran zur besseren Löslichkeit und zu einer weiteren Verdünnung der TFA in der Gesamtlösung bei. Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte untersucht werden, ob sich der Bis-TBDMS-geschützte Uridin-5'-Alkohol **161** unter besonders milden Bedingungen unter Zuhilfenahme möglichst geringer Mengen TFA entschützen lässt. In einem ersten Versuch wurden daher die beschriebenen Bedingungen verwendet und der Alkohol **161** mit 50% TFA in Wasser versetzt, wobei auch hier eine geringe Menge Tetrahydrofuran als Cosolvens für die Gewährleistung der Löslichkeit hinzugegeben wurde (Abb. 4.39). Mithilfe von LC-MS-Analysen konnten die Entschützungsreaktionen zielgerichtet verfolgt werden. Nach bereits 2 h konnte ein vollständiger Umsatz zum Uridin **1** beobachtet werden (Tab. 4.6, Eintrag 1).

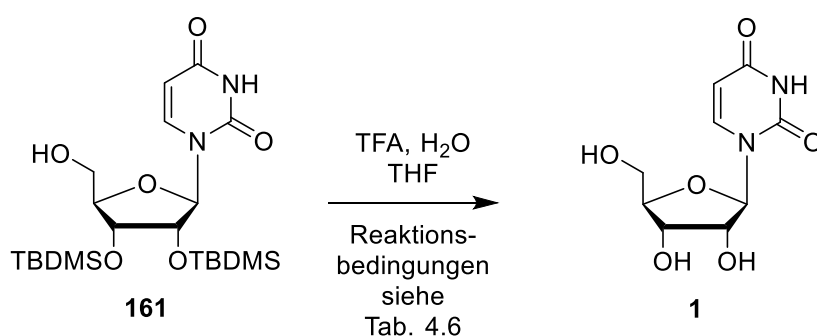


Abb. 4.39 Entschützungsstudien zu den TBDMS-Silylethern.

Tab. 4.6 Reaktionsbedingungen für die TBDMS-Entschützung.

Eintrag	TFA / H ₂ O	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Ergebnis
1	50% (4 mL)	THF (1 mL)	Rt	2 h	vollständiger Edukt-Umsatz
2	30% (5 mL)	THF (1 mL)	Rt	4 h	vollständiger Edukt-Umsatz
3	20% (4 mL)	THF (1 mL)	Rt	16 h	vollständiger Edukt-Umsatz

Um herauszufinden, wie sich die Reaktionszeit und die eingesetzte Säuremenge ins Verhältnis setzen lassen, wurde in einem zweiten Versuch nur noch mit 30% TFA in Wasser gearbeitet. Dabei verlängerte sich die Reaktionszeit auf akzeptable 4 h (Tab. 4.6, Eintrag 2).

Wurde die Menge an TFA in einem dritten Versuch auf 20% verringert, dauerte die Reaktion wesentlich länger. Es wurde über Nacht gerührt und eine vollständige Umsetzung nach 16 h erreicht (Tab. 4.6, Eintrag 3). Würde man den Säureanteil in der Reaktion weiter reduzieren, würde man bei noch längeren Reaktionszeiten sicherlich ebenfalls Erfolg in der Umsetzung des Uridin-5'-Alkohols **161** zum Uridin **1** haben. Dies wurde jedoch nicht weiter überprüft, da in dieser Versuchsreihe der Beweis erbracht worden war, dass die TBDMS-Gruppen sich

bereits bei sehr milden Bedingungen von 30% beziehungsweise 20% TFA in Wasser und in Reaktionszeiten, die noch weit unter den etablierten 24 h lagen, abspalten ließen.

In weiteren Studien sollte als nächstes festgestellt werden, ob die POM-Ester, die für die anvisierten Muraymycin-Prodrugs eingesetzt wurden, unter diesen Bedingungen stabil waren. Diese POM-Ester sollten sich im Verlauf vorliegender Arbeiten als zu säurelabil für die etablierten Entschützungsbedingungen mit 80% TFA in Wasser herausstellen. Das TFA-Salz der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** bot sich in diesem Zusammenhang als optimale Testsubstanz mit zwei TBDMS-Silylthern und einer POM-Gruppe an. Dieses wurde in Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst und 20% TFA in Wasser (4 mL) hinzugegeben. Um die Stabilität der POM-Ester bei längeren Reaktionszeiten zu überprüfen, wurde auch hier 16 h über Nacht gerührt. Mithilfe von LC-MS-Analysen konnte gezeigt werden, dass das Edukt vollständig umgesetzt worden war und das gewünschte Produkt **182** mit intaktem POM-Ester als einziges Hauptprodukt resultierte (Abb. 4.40). Da auch keine Abspaltungsprodukte

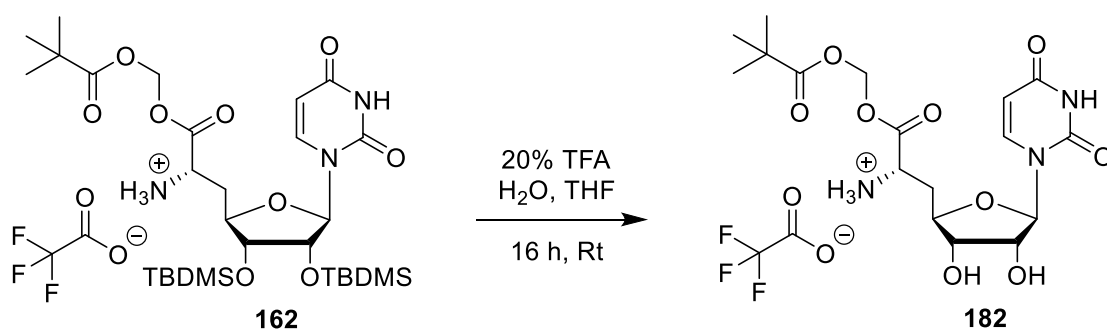


Abb. 4.40 Entschützung der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162**.

auftraten, zeigte sich erfreulicherweise, dass der POM-Ester unter den verwendeten Entschützungsbedingungen stabil war. Weil es sich um methodische Studien handelte, wurde sowohl an dieser Stelle als auch bei den zuvor beschriebenen Entschützungsstudien auf eine Reinigung und Ausbeutebestimmung verzichtet.

Auch die *N*-Cbz- und *tert*-Butylester-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **163** stellte einen potentiellen Kandidaten für Entschützungsstudien, in diesem Fall bezogen auf den sauer spaltbaren *tert*-Butylester, dar. Da erwartet wurde, dass der *tert*-Butylester zur Abspaltung etwas mehr Säure benötigte, wurde mit 30% TFA in Wasser (5 mL) begonnen und ebenfalls Tetrahydrofuran (1 mL) zur besseren Löslichkeit des Eduktes **163** hinzugegeben. In LC-MS-Untersuchungen wurde nach 16 h über Nacht ein Gemisch aus gewünschtem Entschützungsprodukt **183** und einer Verbindung, bei der die *tert*-Butyl-Gruppe noch im Molekül verblieben war, im Verhältnis 1:1 identifiziert. In weiteren 16 h wurde auch der Rest des verbliebenen *tert*-Butylesters gespalten und in der LC-MS-Analyse nur noch das

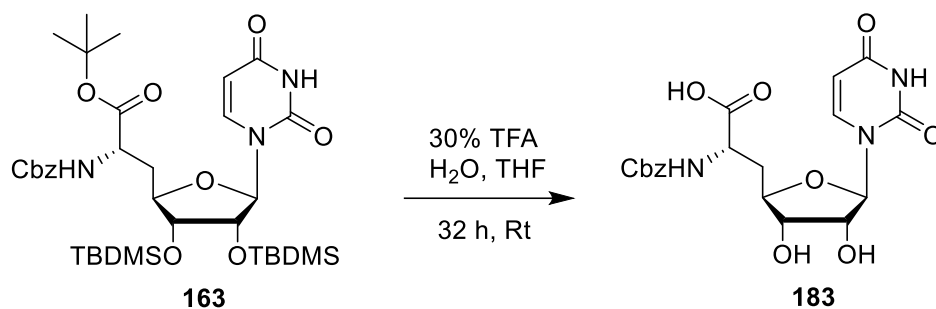


Abb. 4.41 Entschützung der *N*-Cbz-*tert*-Butylester-Nucleosyl-Aminosäure **163**.

Hauptprodukt **183** identifiziert (Abb. 4.41). Wie erwartet war somit für die Abspaltung des *tert*-Butylesters mehr Säure erforderlich, wenn die Reaktionszeiten nicht zu lang werden sollten. Eine Konzentration der TFA von 40% in Wasser war daher zu empfehlen. Ob allerdings unter diesen Bedingungen die Stabilität der in den Muraymycin-Prodrugs enthaltenen POM-Ester noch gegeben war, wurde später geklärt (vgl. Kapitel 4.10.2).

Zunächst war fraglich, ob sich die herausgearbeiteten Bedingungen auch auf das verlängerte und vollständig geschützte Muraymycin-Analogon **184** übertragen ließen, was im Folgenden geklärt werden sollte. **184** wurde im Zuge der Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **76** generiert (vgl. Kapitel 4.9.1), jedoch nur anhand von massenspektrometrischen Untersuchungen charakterisiert. Auf der Grundlage einer säulenchromatographischen Reinigung und des UV-Chromatogramms ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit dieses vollständig geschützten Vorläufermoleküls **184** angenommen. Die Verbindung wies neben den beiden TBDMS-Ethern und dem *tert*-Butylester noch einen weiteren *tert*-Butylester, sowie eine *N*-Boc-Schutzgruppe auf (Abb. 4.42). Beginnend mit 20% TFA in Wasser sollte an einem Zeitfenster von 16 h und Raumtemperatur festgehalten werden und der Anteil der TFA schrittweise immer weiter erhöht werden, bis das vollständig entschützte Muraymycin-Analogon **76** resultierte. Dabei wurde jeweils die Mischung der Verbindungen, die in der jeweils vorangegangenen Entschützungsreaktion isoliert werden konnte, wieder eingesetzt. Die Ergebnisse sind untenstehend zusammengefasst (Tab. 4.7), wobei eine Analyse anhand des UV-Chromatogramms ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse erfolgte. Da es sich auch hier um methodische Studien handelt wurde auf eine Aufreinigung und Ausbeutebestimmung verzichtet.

Mit 20% TFA in Wasser konnte auf diese Weise unter Zugabe von Tetrahydrofuran (1 mL) für die bessere Löslichkeit eine eindeutige Hauptkomponente in der LC-MS-Analyse identifiziert werden, bei der die TBDMS- und Boc-Schutzgruppen vollständig abgespalten, beide *tert*-Butylester jedoch im Molekül verblieben waren (Tab. 4.7, Eintrag 1). Als neue

Erkenntnis konnte aus dieser Reaktion gezogen werden, dass die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe unter diesen Bedingungen keine Probleme darstellte.

Wurde der Anteil an TFA in der folgenden Umsetzung auf 30% in Wasser unter Zugabe von Tetrahydrofuran (1 mL) erhöht, konnte in der LC-MS-Analyse festgestellt werden, dass einer der *tert*-Butylester-Gruppen bereits gänzlich abgespalten war, die andere jedoch zum Großteil im Molekül verblieb. Dies resultierte in einem Anteil an 10% der gewünschten Zielverbindung **76** (Tab. 4.7, Eintrag 2). Aus diesem Ergebnis konnte geschlussfolgert werden, dass die Carboxyl-Funktion an der Nucleosyl-Aminosäure entschützt worden sein musste. Der *tert*-Butylester war bereits in vorangegangenen Studien anhand der Nucleosyl-Aminosäure **163** unter Zuhilfenahme von 30% TFA in Wasser gespalten worden (Abb. 4.41). Dies bedeutete jedoch auch, dass die terminale *tert*-Butylgruppe am Harnstoffdipeptid wesentlich stabiler war und ein entsprechend größerer Anteil an TFA zur Abspaltung benötigt werden würde, was es im Folgenden galt herauszufinden.

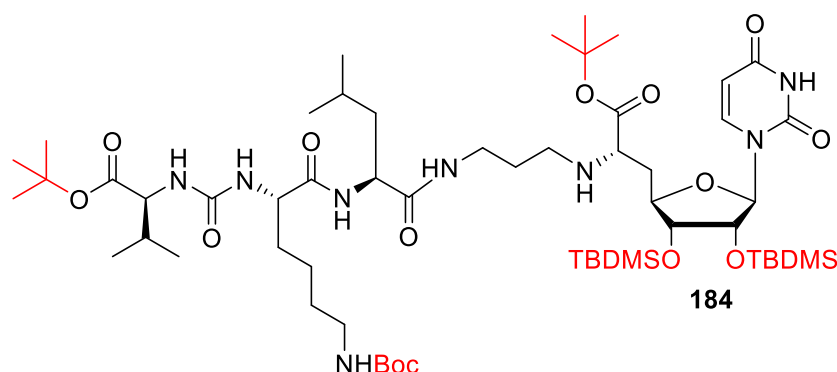


Abb. 4.42 Zu entschützendes Muraymycin-Analogon **184**.

Tab. 4.7 Entschützungsstudie des Muraymycin-Analogons **184**.

Eintrag	TFA / H ₂ O	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	UV-Chromatogramm / LC-MS
1	20% (4 mL)	THF (1 mL)	16 h	Rt	TBDMS- und Boc-Abspaltung, beide <i>tert</i> -Butylester verbleibend
2	30% (4 mL)	THF (1 mL)	16 h	Rt	Zielverbindung : Nebenprodukt mit <i>tert</i> -Butylester (1:9)
3	30% (5 mL)	THF (1 mL)	16 h	Rt	ca. vergleichbares Resultat (2:8)
4	40% (5 mL)	THF (1.5 mL)	16 h	Rt	Zielverbindung : Nebenprodukt mit <i>tert</i> -Butylester (1:1)
5	40% (5mL)	THF (1.5 mL)	16 h	Rt	ca. vergleichbares Resultat (6:4)
6	50% (5mL)	THF (1.5 mL)	16 h	Rt	Zielverbindung : Nebenprodukt mit <i>tert</i> -Butylester (3:1)
7	50% (5mL)	THF (1.5 mL)	16 h	Rt	ca. vergleichbares Resultat (4:1)
8	60% (5mL)	THF (1.5 mL)	16 h	Rt	Zielverbindung : Nebenprodukt mit <i>tert</i> -Butylester (10:1)

Zunächst wurde aber zur Validierung des zuvor erlangten Ergebnisses die isolierte Produktmischung erneut auf gleiche Weise mit 30% TFA in Wasser umgesetzt, was wie erwartet, zu einem sehr vergleichbaren Resultat mit etwas mehr Anteil an der Zielverbindung (**76**/*tert*-Butylester 2:8) führte (Tab. 4.7, Eintrag 3).

Wurde der Anteil an TFA auf 40% in Wasser erhöht, konnte ein vielversprechenderes Ergebnis erzielt werden, da das Verhältnis von Zielverbindung **76** zum Nebenprodukt mit einem *tert*-Butylester jetzt 1:1 betrug (Tab. 4.7, Eintrag 4).

Es wurde erwartet, dass eine vollständige Entschützung der Verbindung **184** erreicht werden konnte, indem weitere 16 h mit 40% TFA in Wasser gerührt wurde. Dies war jedoch nicht der Fall. Der Anteil der Zielverbindung **76** in der Produktmischung nahm zwar um einen kleinen Teil zu, jedoch führte dies nur zu einem Verhältnis von 6:4 des Produkts zum einfach geschützten Intermediat (Tab. 4.7, Eintrag 5). Dies war vor dem Hintergrund verwunderlich, da bereits zuvor in Entschützungsstudien gezeigt werden konnte, dass die Entschützungen bei längeren Reaktionszeiten weiter voranschritten.

In einem sechsten Ansatz wurde die Produktmischung nun bei einem weiter erhöhten Anteil von 50% TFA in Wasser 16 h gerührt und dabei erneut ein etwas größerer Anteil der Zielverbindung **76** im Verhältnis 3:1 zum Nebenprodukt erhalten (Tab. 4.7, Eintrag 6). Das Verhältnis konnte in einem siebten Ansatz bei exakt gleicher Vorgehensweise erneut nur geringfügig auf 4:1 erhöht werden (Tab. 4.7, Eintrag 7). Dies bestätigte noch einmal die Erkenntnis, dass in diesem Fall die Menge der eingesetzten TFA und die Zeit nicht auf die Weise zu korrelieren schienen, wie es in der Entschützung der Nucleosyl-Aminosäure **163** der Fall war. An dieser Stelle schien der für die Entschützung eingesetzte Anteil an TFA wesentlich stärker ins Gewicht zu fallen als die Reaktionszeit.

Dies zeigte sich noch einmal ganz besonders in einem achten und letzten Ansatz, bei dem mit 60% TFA in Wasser gearbeitet wurde und nach 16 h und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum schlussendlich die Zielverbindung **76** als Hauptkomponente und das Nebenprodukt mit einem *tert*-Butylester nur noch als Minderkomponente (10:1) erhalten werden konnten (Tab. 4.7, Eintrag 8).

Die Entschützungsstudie wurde daraufhin beendet und es wurde postuliert, dass 20% TFA in Wasser für die Abspaltung der TBDMS- und Boc-Schutzgruppen ausreichen. Für die Abspaltung des *tert*-Butylesters an der Nucleosyl-Aminosäure wurde ein Anteil von 30% bis 40% von TFA in Wasser empfohlen. Für die *tert*-Butylgruppe am Harnstoffdipeptid hingegen war ein Anteil von mindestens 60% an TFA in Wasser unter der Prämisse nötig, dass die Reaktionszeit möglichst kurz gehalten werden sollte. Diese Bedingungen sollten sich jedoch

für die POM-Ester-haltigen Muraymycin-Prodrugs im Folgenden als zu harsch herausstellen (vgl. Kapitel 4.10.2).

4.10 Synthese der Muraymycin-Prodrugs

Die bisher in der Arbeitsgruppe Ducho dargestellten Muraymycin-Analoga zeigten zwar *in vitro* oftmals inhibitorische Aktivität gegenüber *MraY*, zeichneten sich jedoch zumeist durch eine geringe antibakterielle Aktivität aus. Es wurde vermutet, dass eine limitierte Zellgängigkeit der hydrophilen Wirkstoffe in diesem Zusammenhang eine entscheidende Rolle spielt. Muraymycin-Derivate mit erhöhter Lipophilie sollten auch eine verbesserte Zellgängigkeit und somit eine höhere antibiotische Aktivität aufweisen. Daher sollte eines der Hauptprojekte vorliegender Dissertation die Synthese von völlig neuartigen Muraymycin-Prodrugs sein. Diesen lipophil maskierten Verbindungen sollte es möglich sein, die Zellmembran zu überwinden, um danach intrazellulär durch Esterasen die entsprechende inhibitorisch aktive Stammverbindung freizusetzen.

4.10.1 Syntheseversuch zu einem verkürzten Prodrug der ersten Generation

Die erste Generation von neuartigen Muraymycin-Prodrugs sollte zunächst von verkürzten Muraymycin-Analoga repräsentiert werden. Danach sollte eine zweite Generation die vollständige Länge der Peptidkette aufweisen. Dabei war das TFA-Salz der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** (vgl. Kapitel 4.8.1.4) Ausgangspunkt der Synthese. Über die Carboxyl-Gruppe des Nucleosyl-Aminosäure-Motives wurde so die lipophile Maskierung des Prodrugs als POM-Ester ins Muraymycin-Analogon eingebracht. Eine reduktive Aminierung mit dem *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **78** (vgl. Kapitel 4.3.2) sollte im ersten Prodrug der ersten Generation resultieren, wobei mit der terminalen Acetylgruppe in verkürzter Form nachgeahmt werden sollte, dass bei den natürlich vorkommenden Muraymycinen weitere Aminosäuren in der Kette folgen.

Zur Synthese des TBDMS-geschützten 5'-Desoxy-Muraymycin-Prodrugs **185** wurde das TFA-Salz **162** in einer reduktiven Aminierung mit dem Aldehyd **78** umgesetzt (Abb. 4.43). In diesem Zuge wurden die Bedingungen der in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Reaktion^[132] aufgrund des TFA-Salzes der Nucleosyl-Aminosäure **167** für TFA-Salze angepasst (vgl. Kapitel 4.9.1.1). Damit überhaupt eine Reaktion stattfinden konnte, musste aus dem TFA-Salz **162** zunächst das entsprechende primäre Amin **77** freigesetzt werden,

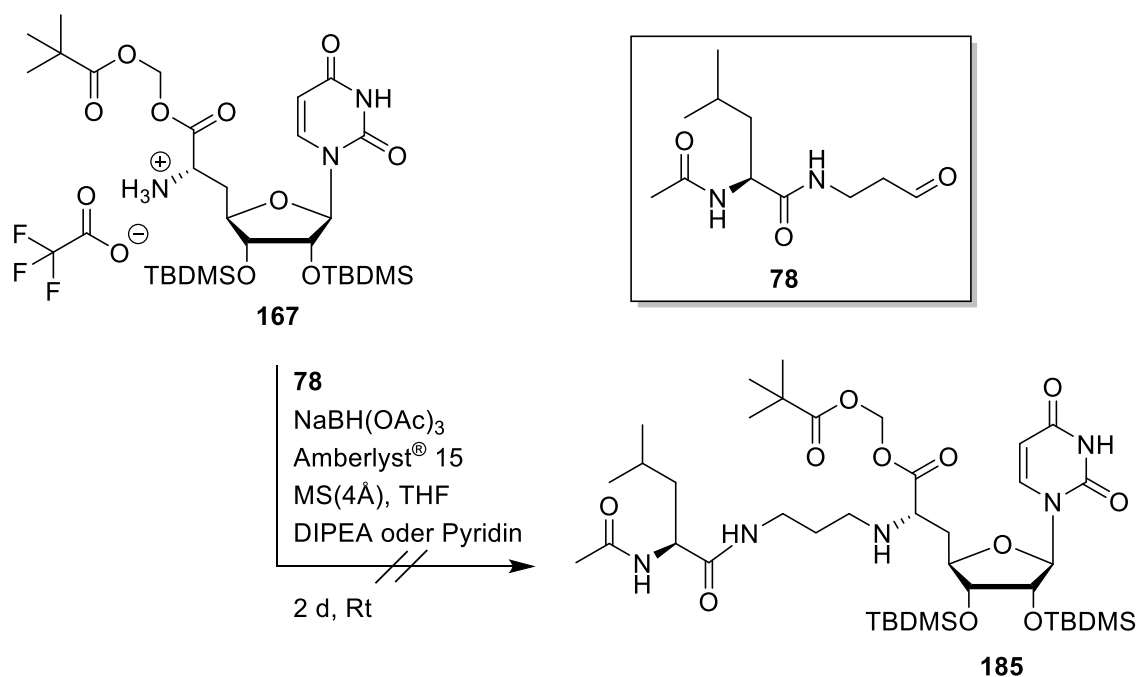


Abb. 4.43 Syntheseveruche eines verkürzten Prodrugs der ersten Generation.

welches dann unter Wasserabspaltung mit dem Aldehyd zum Imin reagieren sollte. Die beiden Edukte wurden daher in Tetrahydrofuran mit DIPEA (2.0 Äq.) versetzt und 23 h gerührt. Anschließend wurden Amberlyst[®] 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxymborhydrid (2.0 Äq.) hinzugegeben, wodurch in weiteren 23 h das Imin zum entsprechenden sekundären Amin **185** reduziert werden sollte. Es konnte jedoch nur eine Mischung aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten isoliert werden, in welcher die Zielverbindung in Spuren enthalten war, was eine massenspektrometrische Analyse zeigte. In einem zweiten Versuch wurde daher mit Pyridin (5.0 Äq.) im Überschuss eine wesentlich mildere Base gewählt, da mögliche Ursachen für eine Zersetzung eine unerwünschte Nebenreaktion des freiwerdenden Amins mit dem POM-Rest gewesen sein könnte, was schon vorher in vorliegender Arbeit beobachtet werden konnte (vgl. 4.8.1.4). Des Weiteren könnte die starke Basizität des DIPEA zu Nebenreaktionen mit dem Aldehyd **78** führen. Der starke Überschuss an Pyridin sollte zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes aus TFA-Salz und freiem Amin in Richtung des Amins führen, was zu einer effektiven Imin-Bildung und zu einer Unterbindung der Nebenreaktion des freien Amins mit dem POM-Rest führen sollte. Bei gleichbleibender Reaktionsführung konnte jedoch erneut nur eine Mischung aus Zersetzungsprodukten erhalten werden, in der nun nicht einmal mehr das gewünschte Produkt **185** nachgewiesen werden konnte (Abb. 4.43). Die Base Pyridin schien somit zu schwach zu sein, um das primäre Amin freizusetzen.

Im Folgenden sollte überprüft werden, welche Faktoren für die Zersetzung des TFA-Salzes **162** verantwortlich waren. Dabei wurde vermutet, dass der Zerfall durch die Reaktion des primären Amins mit der POM-Gruppe während der Reaktion schneller verlief als die Reaktion des primären Amins mit dem umzusetzenden Aldehyd **78**. Aus diesem Grund sollte der generelle Einfluss des äußerst polaren Aldehyds **78** auf die reduktive Aminierung untersucht werden. Dafür sollte dieser in einer reduktiven Aminierung unter den bekannten und etablierten Bedingungen mit der Nucleosyl-Aminosäure **43** umgesetzt werden. Aldehyd **78** und Nucleosyl-Aminosäure **43** wurden somit in Tetrahydrofuran für 24 h gerührt, Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) hinzugegeben und weitere 24 h gerührt (Abb. 4.44). Interessanterweise konnten nach wässriger Aufarbeitung

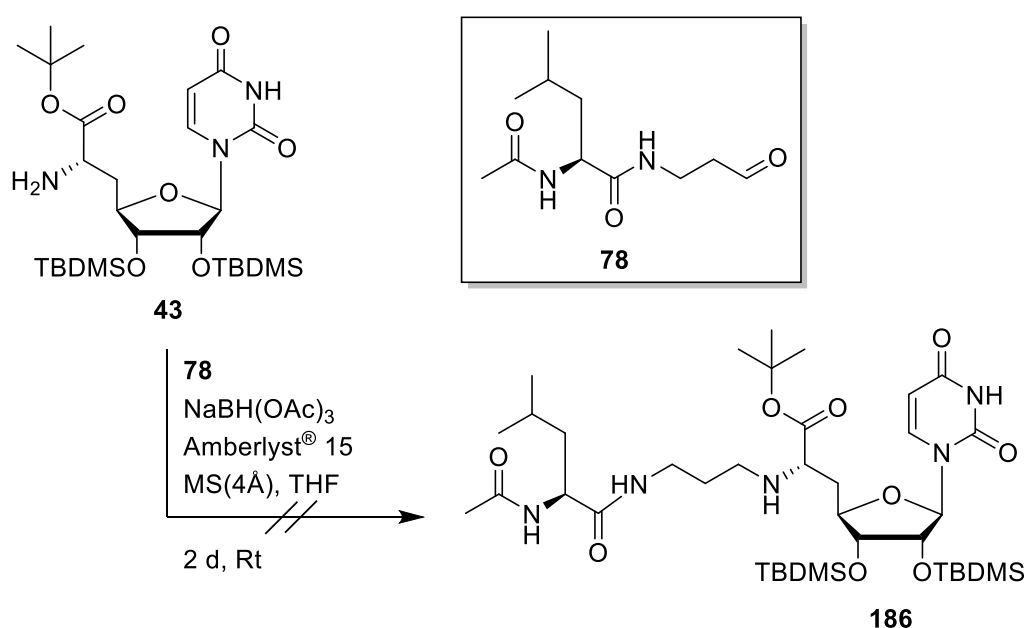
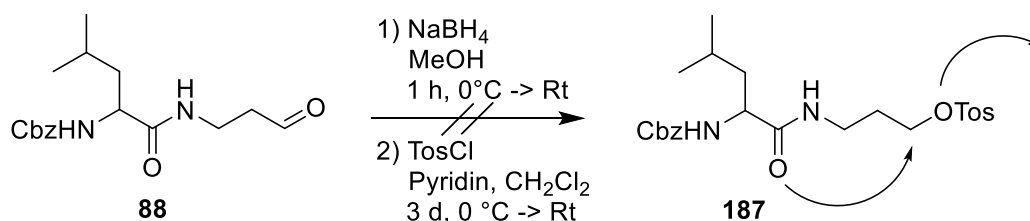


Abb. 4.44 Testreaktion zur Synthese eines verkürzten Prodrugs der ersten Generation.

und säulenchromatographischer Reinigung keinerlei Produktpuren **186** in einer Mischung aus Zersetzungsprodukten ausgemacht werden. In einer analogen Wiederholung der Reaktion wurde das Ergebnis noch einmal bestätigt. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde schließlich hauptsächlich der Aldehyd **78** aufgrund seiner starken Polarität und der damit einhergehenden veränderten Reaktivität, und nicht das TFA-Salz der POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** für das Misslingen der eingangs versuchten reduktiven Aminierung zu Verbindung **183** verantwortlich gemacht.

Wie bereits zuvor beschrieben wies die primäre Amino-Funktion von Nucleosyl-Aminosäuren eine ganz spezielle und interessante Reaktivität auf (vgl. Kapitel 4.8.1.3). An dieser Stelle sollte dennoch versucht werden, die Synthese des geschützten Vorläufers **185** eines verkürzten Prodrugs der ersten Generation mithilfe einer Alkylierung zu erreichen. Da nicht

Abb. 4.45 Syntheseversuch des Tosylats **187**.

ausgeschlossen werden konnte, dass sowohl das TFA-Salz **162** als auch der eingesetzte polare Aldehyd **78** für die fehlgeschlagene reduktive Aminierung verantwortlich waren, sollte eine Testreaktion der Alkylierung zunächst anhand des *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **88** vorgenommen werden. Bei diesem konnte angesichts der zahlreichen Umsetzungen auf mehr Erfahrungswerte zurückgegriffen werden. Dafür musste dieser zunächst in den entsprechenden Alkohol umgewandelt werden, wobei Aldehyd **88** in Methanol bei 0 °C mit Natriumborhydrid (5.0 Äq.) versetzt und innerhalb einer Stunde auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Der entstandene Alkohol wurde direkt in Dichlormethan gelöst, bei 0 °C mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid und Pyridin versetzt und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung konnte jedoch kein Tosylat **187** isoliert werden, wofür eine mögliche intramolekulare Ringschlussreaktion und darauf aufbauende Zersetzungsreaktionen verantwortlich gemacht wurden (Abb. 4.45).

Da in der Arbeitsgruppe Ducho bereits zuvor gezeigt worden war, dass verkürzte Muraymycin-Analoga nur sehr schlechte bis gar keine inhibitorische Aktivität gegenüber *MraY* aufweisen und sich die Zugänglichkeit verkürzter Prodrugs als unerwartet kompliziert herausstellte, wurde keine weitere Optimierung der Synthese für eine Alkylierung des TFA-Salzes **162** oder der reduktiven Aminierung mit dem Aldehyd **78** vorgenommen. Es war davon auszugehen, dass der Befund für eine schlechte biologische Aktivität auch für ein verkürztes Muraymycin-Prodrug der ersten Generation gelten würde. Vielmehr wurde an dieser Stelle dazu übergegangen, Muraymycin-Prodrugs der zweiten Generation mit vollständigem Grundgerüst zu generieren.

4.10.2 Synthese des Bis-POM-Prodrugs **73**

Für die Synthese des ersten neuartigen Muraymycin-Prodrugs sollte neben dem POM-Ester, der über die Nucleosyl-Aminosäure **162** (vgl. Kapitel 4.8.1.4) eingeführt werden sollte, ein zweiter POM-Ester als enzymatisch spaltbare Maskierungsgruppe über das Harnstoffdipeptid **83** (Abb. 4.49, vgl. Kapitel 4.6.1.3) eingeführt werden und auf diese Weise

letztendlich das Bis-POM-Prodrug **73** (Abb. 4.50) resultieren. Ein großer Vorteil sollte dabei sein, dass auf diese Weise auf sauer schwerer spaltbare *tert*-Butylester als Carboxyl-Schutzgruppen verzichtet werden konnte und eine globale saure Entschützung mit ungefähr 20% TFA in Wasser gelingen sollte, was die zuvor erbrachten Studien der globalen sauren Entschützung gezeigt hatten (vgl. Kapitel 4.9.2).

Zunächst sollte jedoch erneut versucht werden das TFA-Salz **162** für eine reduktive Aminierung mit dem L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** zugänglich zu machen. In vorangegangenen Syntheseversuchen von verkürzten Muraymycin-Prodrugs konnte diese Umsetzung mithilfe *N*-Acetyl-L-Leucin-abgeleiteten Aldehyds **78** nicht realisiert werden (vgl. Kapitel 4.10.1). Dies sollte aber für die vorliegende Reaktion kein Problem darstellen, da der Aldehyd **78** eine wesentlich größere Polarität aufwies, was zu einem ganz anderen Verhalten in dieser Reaktion führen konnte. Andererseits waren reduktive Aminierungen mit dem TFA-Salz der Nucleosyl-Aminosäure **167** und *N*-Cbz-geschütztem Aldehyd **88** bereits erfolgreich durchgeführt worden (vgl. Kapitel 4.9.1.1).

In einem ersten Versuch wurde das TFA-Salz **162** mit dem Aldehyd **88** nach zuvor entwickelter Methodik mit DIPEA (2.0 Äq.) als Base in Tetrahydrofuran für 24 h umgesetzt, Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) hinzugegeben und weitere 24 h gerührt (Abb. 4.46). Die aufgenommenen NMR-Spektren zeigten einen kompletten Zerfall, was verwunderlich war, da in der Reaktionskontrolle und nach der Aufarbeitung ein klares Hauptprodukt vorlag, welches auch säulenchromatographisch isoliert werden konnte. Analog wurde daher ein zweiter Versuch unternommen, dessen

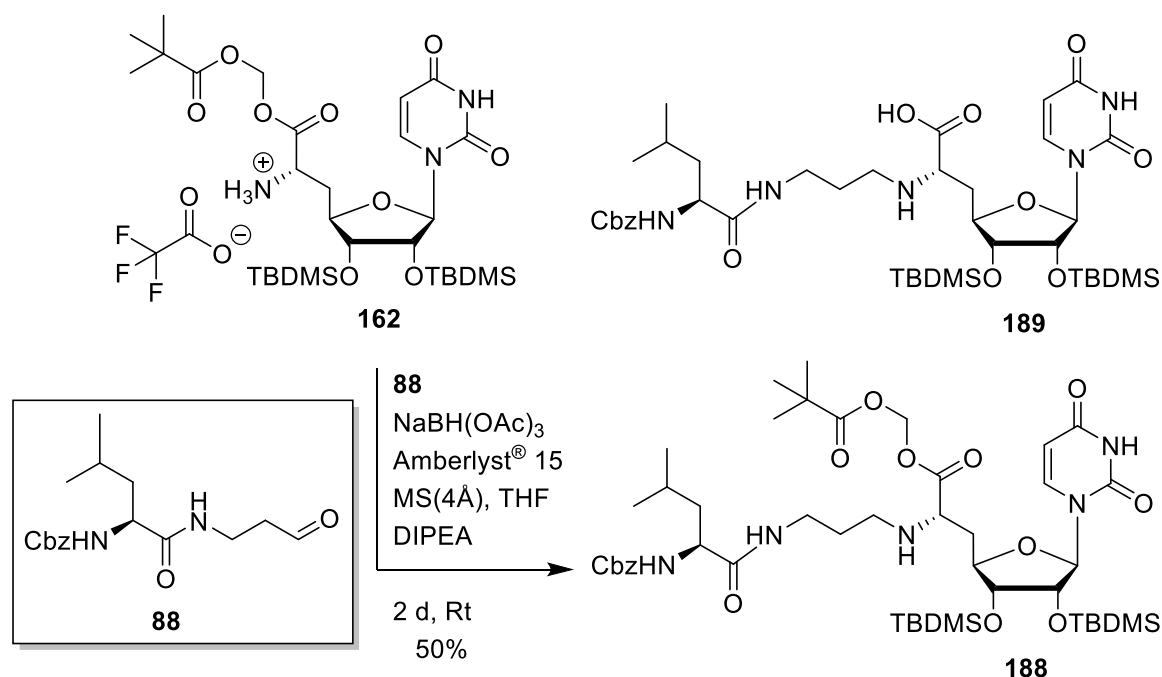


Abb. 4.46 Synthese der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **188**.

Reaktionskontrolle sich als ähnlich erfolgreich zeigte. Durch einen anschließenden Wechsel des deuterierten Lösungsmittels von Methanol auf Chloroform konnte das Produkt der reduktiven Aminierung der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **188** schließlich mittels NMR-Spektroskopie erfolgreich nachgewiesen und eine Ausbeute von 44% erreicht werden. Spektren derselben Substanz wurden anschließend noch einmal in deuteriertem Methanol aufgenommen, was die Beobachtungen des ersten Versuchs der Reaktion belegte und in einem Gemisch aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten resultierte. Wurde dieselbe Substanz erneut in deuteriertem Chloroform gemessen, wurden zur Messung in deuteriertem Methanol unverändert schlechte Spektren erhalten. Es handelte sich bei vorliegendem Problem somit nicht um einen reversiblen Effekt des NMR-Lösungsmittels, sondern um einen Zerfall der Zielverbindung **188** in Methanol. Hierbei können eine Umesterung des POM-Esters mit Methanol zum Methylester und sich daran anschließende komplexere Zersetzungsreaktionen nicht ausgeschlossen werden. Dies war vor allem vor dem Hintergrund nicht verwunderlich, dass das Molekül nicht mehr als TFA-Salz vorlag, was durch ein ^{19}F -NMR Spektrum belegt werden konnte, und somit die Verbindung **188** als ein labiles und für Zersetzungen anfälliges basisches Molekül erzeugt wurde.

In diesem Zuge sollte auch die säulenchromatographische Reinigung, die mit Laufmittelgemischen von Dichlormethan und Methanol erzielt wurde, umgestellt werden um die Ausbeute weiter zu erhöhen. Dabei boten sich aufgrund der Polarität der Zielverbindung **188** vornehmlich Mischungen von Dichlormethan und Ethylacetat an. Im nächsten Versuch wurde daher zunächst ein Verhältnis von Dichlormethan zu Ethylacetat von 30:70 getestet. Dabei zeigte sich, dass zwar während der Reaktion entstandene Verunreinigungen besser abgetrennt werden konnten, jedoch eluierte die Zielverbindung **188** nur äußerst langsam. Letztendlich konnte auf diese Weise nur eine Ausbeute von 36% erzielt werden, was damit begründet wurde, dass sich das Produkt im leicht sauren Milieu des Kieselgels zersetzt hatte.

Wurde in einem weiteren Versuch der reduktiven Aminierung bei exakt gleichbleibenden Reaktionsbedingungen eine Gradiententrennung mit Laufmittelgemischen von Dichlormethan und Ethylacetat von 20:80 zu 10:90 angestrebt, konnte die beste Ausbeute von 50% erreicht werden (Abb. 4.46). Zudem konnte in Ausbeuten von 15% bis 30% auch ein bei der Reaktion entstandenes Nebenprodukt sauber isoliert werden. Mithilfe von LC-MS-Analysen konnte diese Verbindung als freie Säure **189** ohne POM-Ester identifiziert werden (Abb. 4.46). Dies erklärte die nur moderaten Ausbeuten in dieser Reaktion und zeigte noch einmal die

Empfindlichkeit der POM-haltigen Verbindungen, sowohl des Eduktes **162** als auch des Produkts **188** der reduktiven Aminierung.

In diesem Zuge wurde weiterhin überlegt die sekundäre Amino-Funktion nach der reduktiven Aminierung direkt mit einer *N*-Boc-Schutzgruppe zu versehen, um eine Nebenreaktion mit dem POM-Ester, die zu einer Zersetzung führte, zu unterbinden. Dabei sollte ein erster Versuch anhand der bereits synthetisierten Modellverbindung **181** (vgl. Kapitel 4.9.1.1) getestet werden. Einer Strategie für die Boc-Schätzung sekundärer Amine folgend^[204] wurde Verbindung **181** in Dichlormethan mit Di-*tert*-Butyldicarbonat versetzt und 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Da keine Veränderung in der Reaktionsmischung festgestellt werden konnte, wurde Triethylamin (5.0 Äq.) hinzugegeben um ein Ansäuern der Mischung zu verhindern. Nach weiteren 26 h wurde jedoch immer noch kein Umsatz beobachtet, weshalb zur weiteren Aktivierung 4-Dimethylaminopyridin (3.0 Äq.) hinzugegeben und weitere 3 d gerührt wurde. Da weiterhin kein Stattfinden der Reaktion zur gewünschten Zielverbindung **190** beobachtet werden konnte, wurde diese abgebrochen (Abb. 4.47). Das Ergebnis dieser Umsetzung war vor dem Hintergrund nicht verwunderlich, dass bereits eine Umsetzung der Nucleosyl-Aminosäure **43** als primäres Amin nicht gelungen war. Dies belegte erneut die eigenartige Reaktivität dieser Funktion (vgl. Kapitel 4.8.1.3) und auch, dass diese Position nicht für Umsetzungen im Sinne einer Acylierung geeignet war.

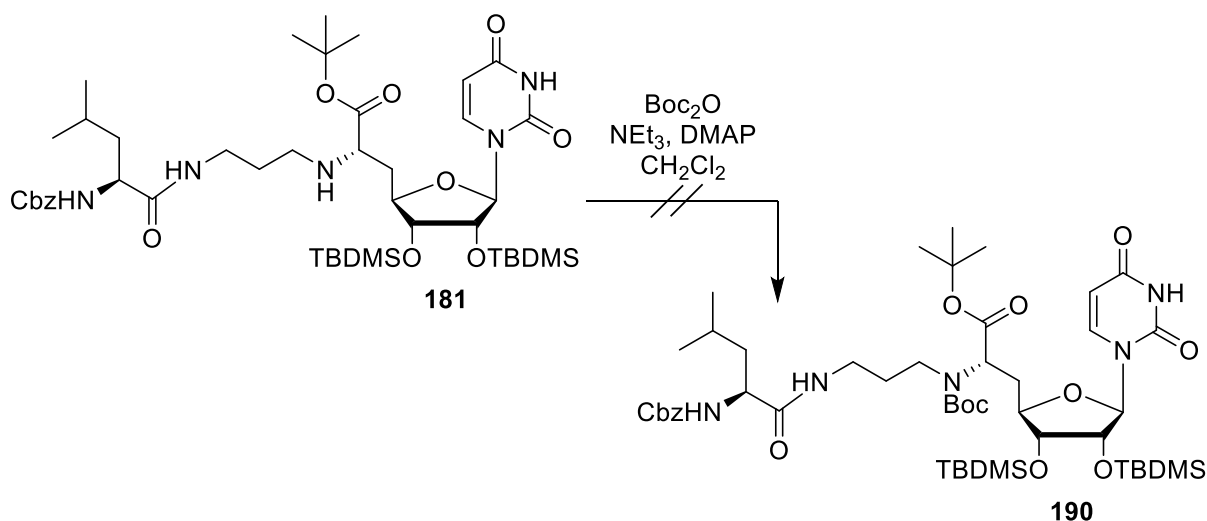


Abb. 4.47 Syntheseversuch einer Boc-Schätzung des sekundären Amins **181**.

Wie zuvor gezeigt werden konnte, war eine POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **77** nur als TFA-Salz **162** stabil. Für das nach der reduktiven Aminierung entstehende sekundäre Amin **188** galt dies auch noch bedingt. **188** konnte zwar nach einer gewissen Optimierung rein isoliert werden, war jedoch sehr empfindlich, was die Generierung eines Nebenproduktes in der reduktiven Aminierung zeigte. Zudem zersetzte sich das sekundäre Amin **188** in

Methanol. Mit diesem Wissen sollte nun die nachfolgende hydrogenolytische Abspaltung der *N*-Cbz-Schutzgruppe der Verbindung **188** angegangen werden. Da wiederum ein primäres Amin resultieren würde, sollte die Zielverbindung direkt als TFA-Salz dargestellt werden. Dabei stellte sich zunächst die Frage, ob äquimolare Mengen an Trifluoressigsäure reichen würden um nur am primären Amin das entsprechende Salz zu bilden, oder ob das sekundäre Amin der Nucleosyl-Aminosäure **188** im Molekül ebenfalls protoniert würde. Nach optimierten Hydrierbedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.2) wurde die *N*-Cbz-geschützte L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **188** in *iso*-Propanol gelöst, mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Trifluoressigsäure (1.0 Äq.) versetzt und die Reaktion durch die Zugabe von Palladium Black gestartet. Erneut konnte bereits nach 1 h ein vollständiger Umsatz erzielt werden. Aufgrund der Instabilität des eingesetzten Eduktes **188** wurde eine NMR-spektroskopische Untersuchung in deuteriertem Chloroform anstelle von deuteriertem Methanol durchgeführt. Eine vollständige Zersetzung war das Ergebnis, was zeigte, dass äquimolare Mengen an TFA nicht ausreichten um das primäre Amin als Salz darzustellen, da sowohl dieses als auch das sekundäre Amin innerhalb des Moleküls protoniert werden mussten. Interessant war, dass wiederum Zersetzungsreaktionen aufgrund des Vorhandenseins der POM-Ester-Maskierungsgruppe an der Carboxyl-Funktion auftraten, sobald erneut ein primäres Amin im Molekül generiert wurde. Ob diese Nebenreaktionen mit anschließender Zersetzung einen intra- oder intermolekularen Charakter besaßen, konnte nicht abschließend geklärt werden. Um im nächsten Versuch sowohl das primäre als auch das sekundäre Amin zu deaktivieren und auf diese Weise ein Bis-TFA-Salz **191** darzustellen, wurde unter ansonsten gleichbleibenden Reaktionsbedingungen die doppelte Menge an TFA (2.0 Äq.) eingesetzt. Auf diese Weise konnte die Zielverbindung **191** nach 1 h in quantitativer Ausbeute und exzellenter Reinheit erhalten werden (Abb. 4.48). In nachfolgenden Studien konnte festgestellt werden, dass sich die dargestellte Verbindung **191** als sehr stabil herausstellte. Die Aufnahme von gut aufgelösten NMR-Spektren in deuteriertem Methanol war nun wieder ohne weiteres möglich. Durch ein ^{19}F -NMR-Spektrum konnte weiterhin eindeutig bewiesen werden, dass es sich bei der dargestellten Verbindung **191** um ein TFA-Salz handelte.

Im Folgenden sollte auch in vorliegender Prodrug-Synthese nun die Peptidkupplung und somit die Verknüpfung mit dem an der Carboxyl-Funktion mit einer POM-Gruppe maskierten Harnstoffdipeptid **83** erfolgen.^[132] Da für diese Reaktion leicht basische Bedingungen erforderlich waren und in diesem Zuge mit DIPEA als Base gearbeitet wurde, sollte sich die Kupplung des Bis-TFA-Salzes **191** problemlos durchführen lassen. Dazu wurde das Harnstoffdipeptid **83** zunächst in Tetrahydrofuran gelöst und unter Zugabe von

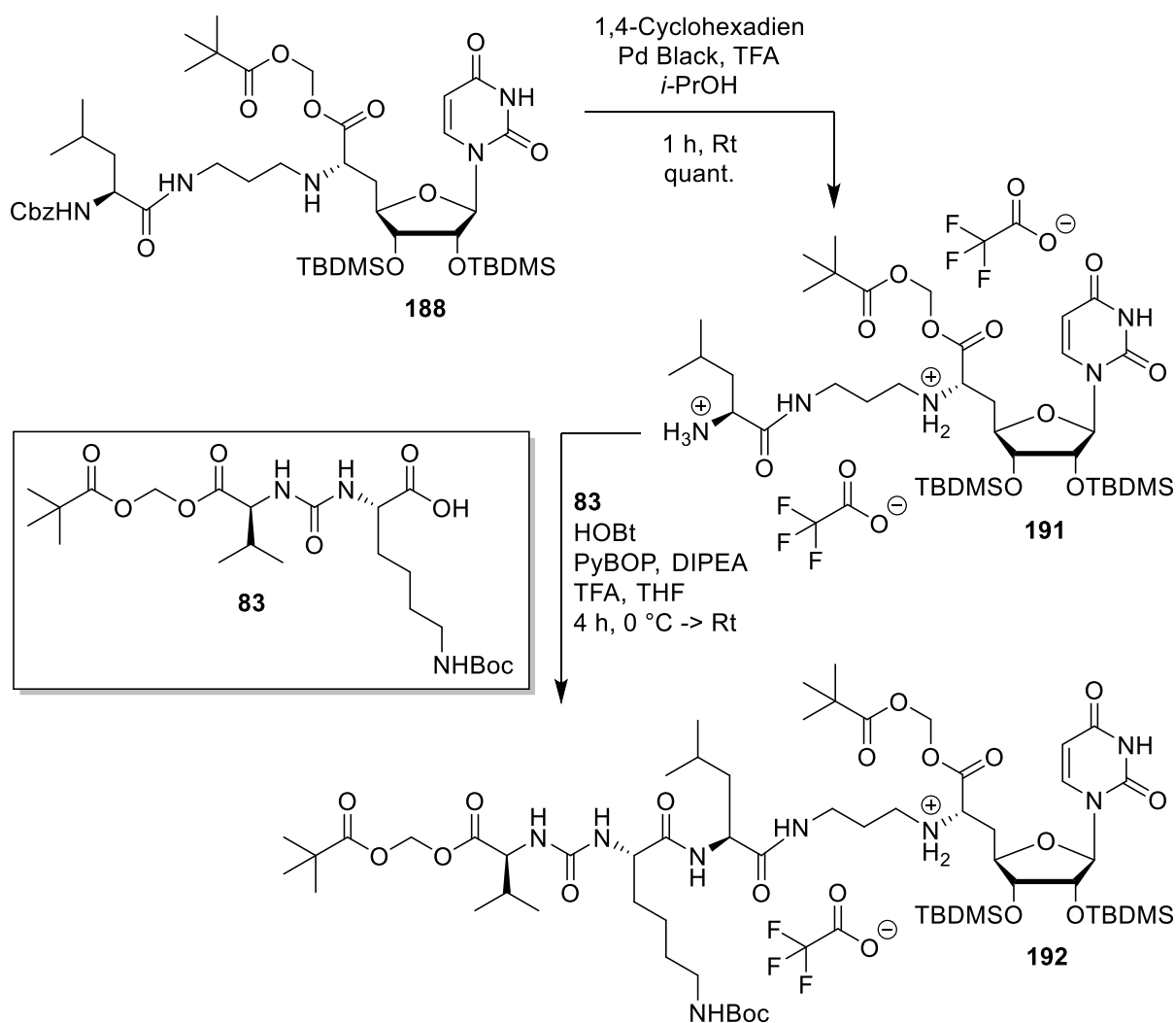


Abb. 4.48 Synthese des vollständig geschützten Bis-POM-Muraymycin-Prodrugs **192**.

1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und DIPEA innerhalb von 30 min aktiviert und bei 0 °C eine Lösung des TFA-Salzes **191** in Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur konnte das vollständig geschützte Vorläufermolekül des Bis-POM-Prodrugs **192** erhalten werden, was anhand massenspektrometrischer Untersuchungen zweifelsfrei belegt werden konnte. Auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung wurde aufgrund der Komplexität der Spektren verzichtet. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine Ausbeute von ca. 40% bestimmt. Die moderate Ausbeute wurde damit begründet, dass während der Reaktion auch die Bildung von Nebenprodukten beobachtet werden konnte, die erneut für eine ungewünschte Zerfallsreaktion zwischen sekundärem Amin der Nucleosyl-Aminosäure und den POM-Estern sprachen, weshalb die

Reaktionsführung optimiert werden sollte. Zunächst wurden 3.0 Äq. DIPEA statt der üblichen 2.0 Äq. eingesetzt, zwei für die Deprotonierung des Bis-TFA-Salzes **191** und eines um die basischen Reaktionsbedingungen zu gewährleisten. Am Ende der Reaktion, vor dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, sollte dann Trifluoressigsäure (2.0 Äq.) hinzugefügt werden, um das sekundäre Amin des entstehenden vollständig geschützten Bis-POM-Prodrugs **192** erneut als TFA-Salz zu maskieren und somit einer Zersetzung vorzubeugen. Dies gelang in einem zweiten Versuch bei gleichbleibender Reaktionsführung, wobei sich die Ausbeute auf ca. 60% verbesserte. Erneut wurde diese auf Basis der festgestellten Reinheit nach Säulenchromatographie anhand des UV-Chromatogramms ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse bestimmt. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass sich über die zeitliche Dauer der säulenchromatographischen Reinigung ebenfalls Zerfalls- oder Abspaltungsprodukte zu bilden schienen. Auf dieser Grundlage wurde überlegt, ob das entstandene Produkt **192** möglicherweise erneut instabil in Methanol war, da für die Reinigung Laufmittelgemische von Dichlormethan und Methanol gewählt wurden. Da sich Eluenten aus Dichlormethan und Ethylacetat bereits in der zuvor bewältigten reduktiven Aminierung bewährt hatten, sollte diese Mischung in einem weiteren Versuch der Peptidkupplung unter den zuvor optimierten Reaktionsbedingungen für die säulenchromatographische Reinigung eingesetzt werden. Aufgrund der starken Polarität mussten dabei jedoch Verhältnisse von 10:90 bis 5:95 von Dichlormethan zu Ethylacetat gewählt werden, bevor die Verbindung, neben einer Vielzahl von Zersetzungsprodukten in noch wesentlich größerem Anteil, langsam eluierte. Eine auf den gleichen Grundlagen wie zuvor geschätzte Ausbeute von lediglich ca. 40% war das Resultat. Nicht die Gegenwart von Methanol schien also das Problem zu sein, sondern das leicht saure Milieu der Kieselgelsäule selbst führte zu einer Zersetzung des anscheinend säurelabilen vollständig geschützten Muraymycin-Prodrugs **192**. Zuletzt sollte daher zu Laufmittelgemischen aus Dichlormethan und Methanol zurückgekehrt und die säulenchromatographische Reinigung beschleunigt werden. Durch eine breitere Kieselgelsäule bei gleichbleibender Kieselgelmenge konnte dies schließlich erreicht werden, ohne Einbußen bezüglich der auf Grundlage des UV-Chromatogramms ($\lambda = 254$ nm) bestimmten Reinheit der isolierten Zielverbindung hinzunehmen. Auf diese Weise konnte das geschützte Muraymycin-Prodrug **192** in einer guten Ausbeute von ca. 70% erhalten werden (Abb. 4.48). Da eine genaue Ausbeutebestimmung nur anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen möglich gewesen wäre, wurde die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.48 angegeben. Diese Angabe erfolgte erst für das Bis-POM-Prodrug **73** über 2 Stufen von Bis-TFA-Salz **191** (Abb. 4.50).

Abschließend sollten die TBDMS-Ether sowie die *N*-Boc-Schutzgruppe der Verbindung **192** in einer globalen sauren Entschützungsreaktion abgespalten werden und dabei die gewünschte Zielverbindung dieser Synthese, das Bis-POM-Muraymycin-Prodrug **73**, resultieren. Da keine Schutzgruppen wie *tert*-Butylester vorhanden waren, die ein stärker saures Milieu zur Spaltung benötigten, sollten milde Bedingungen von 20% TFA in Wasser genügen, was im Zuge von Studien zu dieser Art von Entschützungen gezeigt worden war (vgl. Kapitel 4.9.2). Unter diesen Bedingungen sollten außerdem die beiden im Molekül vorhandenen POM-Ester erhalten bleiben (vgl. Kapitel 4.9.2), die sich zuvor als durchaus säurelabil erwiesen hatten. Das geschützte Muraymycin-Prodrug **192** wurde daher in Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt, mit 20% TFA in Wasser (4 mL) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde mit Wasser verdünnt, um die Trifluoressigsäure beim Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum nicht zu sehr aufzukonzentrieren. In einer Analyse per LC-MS zeigte sich im UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) das gewünschte Bis-POM-Prodrug **73** wie erwartet als Hauptverbindung, jedoch in einer Mischung mit drei weiteren Verbindungen (Abb. 4.49).

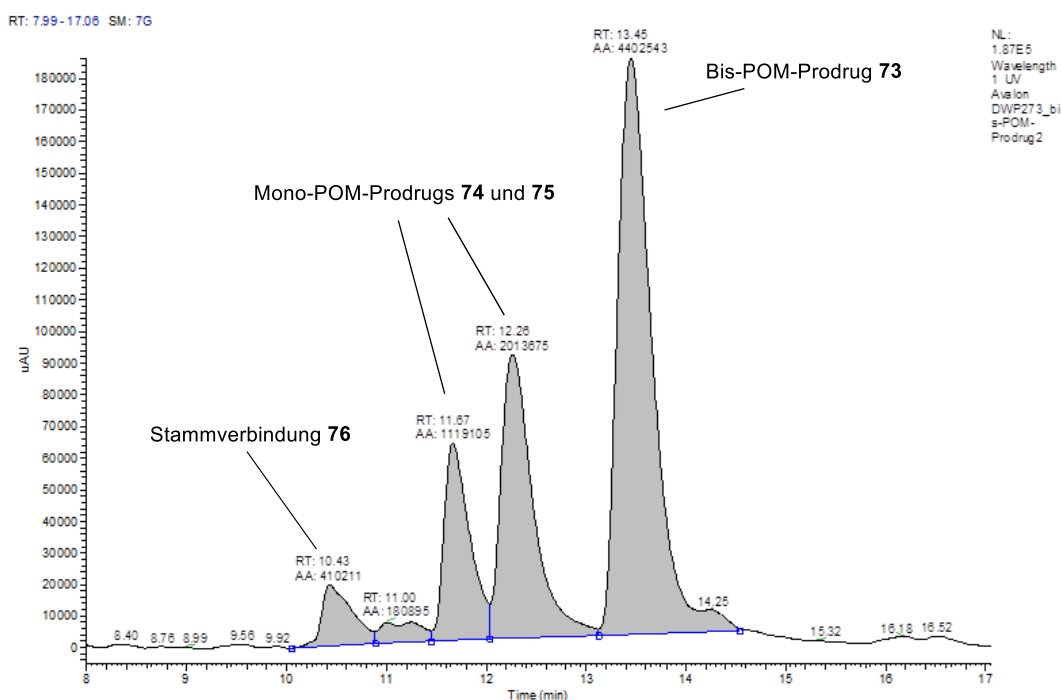


Abb. 4.49 Bis-POM-Prodrug, LC-MS-Analyse, UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm).

Dabei wiesen zwei der Verbindungen dieselbe Masse auf. Diese passte zu den beiden Mono-POM-Prodrugs, die ebenfalls im Verlauf der vorliegenden Arbeit dargestellt werden sollten (vgl. Kapitel 4.10.3 und Kapitel 4.10.4). Es überraschte jedoch, dass eines dieser Mono-POM-Prodrugs in etwa doppeltem Anteil zum anderen vorhanden war, was bedeutete, dass einer der POM-Ester wesentlich leichter zu spalten war. Für welchen Ester dies galt und welche Verbindung welchem Peak im UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS Analyse

zuzuordnen war, konnte im späteren Verlauf der vorliegenden Arbeit geklärt werden (vgl. Kapitel 4.10.3). Für vorliegendes Syntheseproblem war dies zunächst nicht weiter von Interesse. Der vierte und kleinste Peak im Spektrum konnte der Stammverbindung **76** zugeordnet werden, bei der beide POM-Ester gespalten worden waren (Abb. 4.49). Aufgrund des Auftretens dieser weiteren Zersetzungen der Zielverbindung im Verlauf der globalen sauren Entschützung konnte auf diese Weise mit 20% TFA in Wasser nur eine Ausbeute von 22% über 2 Stufen von **191** nach semipräparativer HPLC-Reinigung erreicht werden.

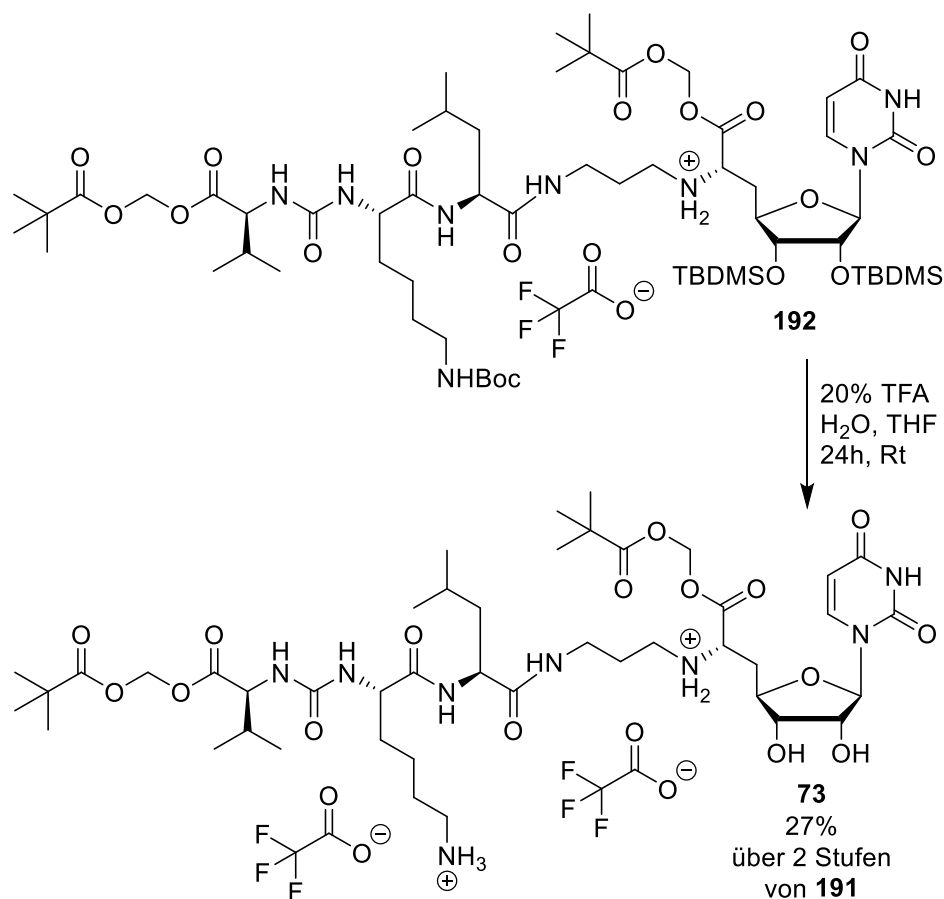


Abb. 4.50 Synthese des Bis-POM-Muraymycin-Prodrugs **73**.

Im Folgenden sollte deshalb geklärt werden, ob eine Abspaltung der POM-Ester unter noch milderen Bedingungen mit 10% TFA in Wasser verhindert werden könnte, um gezielter das gewünschte Muraymycin-Prodrug **73** darzustellen. Unter der Prämisse, dass nun mit einer Verlängerung der Reaktionszeit zu rechnen war, wurde das geschützte Prodrug **192** in analoger Weise wie zuvor mit 10% TFA in Wasser gerührt. Die Reaktion wurde erneut mittels LC-MS kontrolliert, wobei festgestellt werden musste, dass erneut die POM-Ester langsam aber stetig gespalten wurden, gleichzeitig aber noch Reste eines nicht umgesetzten *N*-Boc-geschützten Prodrug-Vorläufers vorhanden waren. Als Mittelweg wurde entschieden die Reaktion nach 24 h abubrechen. Nach semipräparativer HPLC-Reinigung konnte auf

diese Weise für das Bis-POM-Muraymycin-Prodrug **73** die beste Ausbeute von 27% über 2 Stufen von **191** erzielt werden. Dies würde einer Ausbeute von ca. 40% basierend auf der Rückgewinnung des *N*-Boc-geschützten Prodrug-Vorläufers entsprechen, wobei von einer entsprechenden Reinheit des eingesetzten vollständig geschützten Eduktes **192** basierend auf Säulenchromatographie und auf dem UV-Chromatogramm einer LC-MS-Analyse ($\lambda = 254$ nm) ausgegangen wurde (Abb. 4.50).

In einem dritten Versuch konnte noch einmal gezeigt werden, dass sich das erzielte Ergebnis unter Bedingungen von 20% TFA in Wasser gut reproduzieren ließ. Um dem weiteren Zerfall der Zielverbindung **73** vorzubeugen, wurde die Reaktionszeit jedoch auf 14 h verkürzt. Das aufgenommene UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse ähnelte jedoch sehr dem des ersten Versuchs und es wurde lediglich eine Ausbeute von 17% über 2 Stufen von **191** erreicht. Für die Zukunft sind somit eher Bedingungen von 10% TFA in Wasser und längere Reaktionszeiten zu empfehlen, wobei der Fortschritt der Reaktion genauestens kontrolliert werden sollte, da eine Abspaltung der POM-Ester unter diesen mild sauren Bedingungen bereits einsetzte, während die *N*-Boc-Entschützung noch unvollständig war. Die dabei ebenfalls isolierten Anteile der beiden Mono-POM-Prodrugs wurden nach semipräparativer HPLC-Reinigung als Referenz für spätere Synthesen dieser beiden Substanzen aufbewahrt.

4.10.3 Synthese des Mono-POM-Prodrugs **74**

Als weitere Zielverbindung sollte neben dem Bis-POM-Prodrug **73** auch das Mono-POM-Prodrug **74** dargestellt werden, welches deutlich polarer war, da es an der Peptidkette mit einer freien Carboxyl-Gruppe abschließt. Dieses sollte nur an der Carboxyl-Gruppe des Nucleosyl-Aminosäure-Motives mit einem POM-Ester zugunsten erhöhter Lipophilie im Vergleich zur Stammverbindung **76** maskiert werden. Für die Synthese des Mono-POM-Prodrugs **74** konnte daher vom Bis-TFA-Salz **191** (Abb. 4.48) ausgegangen werden, dessen Synthese bereits eingehend optimiert worden war (vgl. Kapitel 4.10.2). Im Folgenden wurde zunächst eine Peptidkupplungsreaktion des Bis-TFA-Salzes **191** mit dem in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellten Harnstoffdipeptid **85** anvisiert,^[132] wonach sich eine globale saure Entschützung anschließen sollte, in der das gewünschte Produkt **74** resultieren sollte. Dazu wurde das Harnstoffdipeptid **85** zunächst in Tetrahydrofuran gelöst, unter Zugabe von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und DIPEA innerhalb von 30 min aktiviert und bei 0 °C eine Lösung des

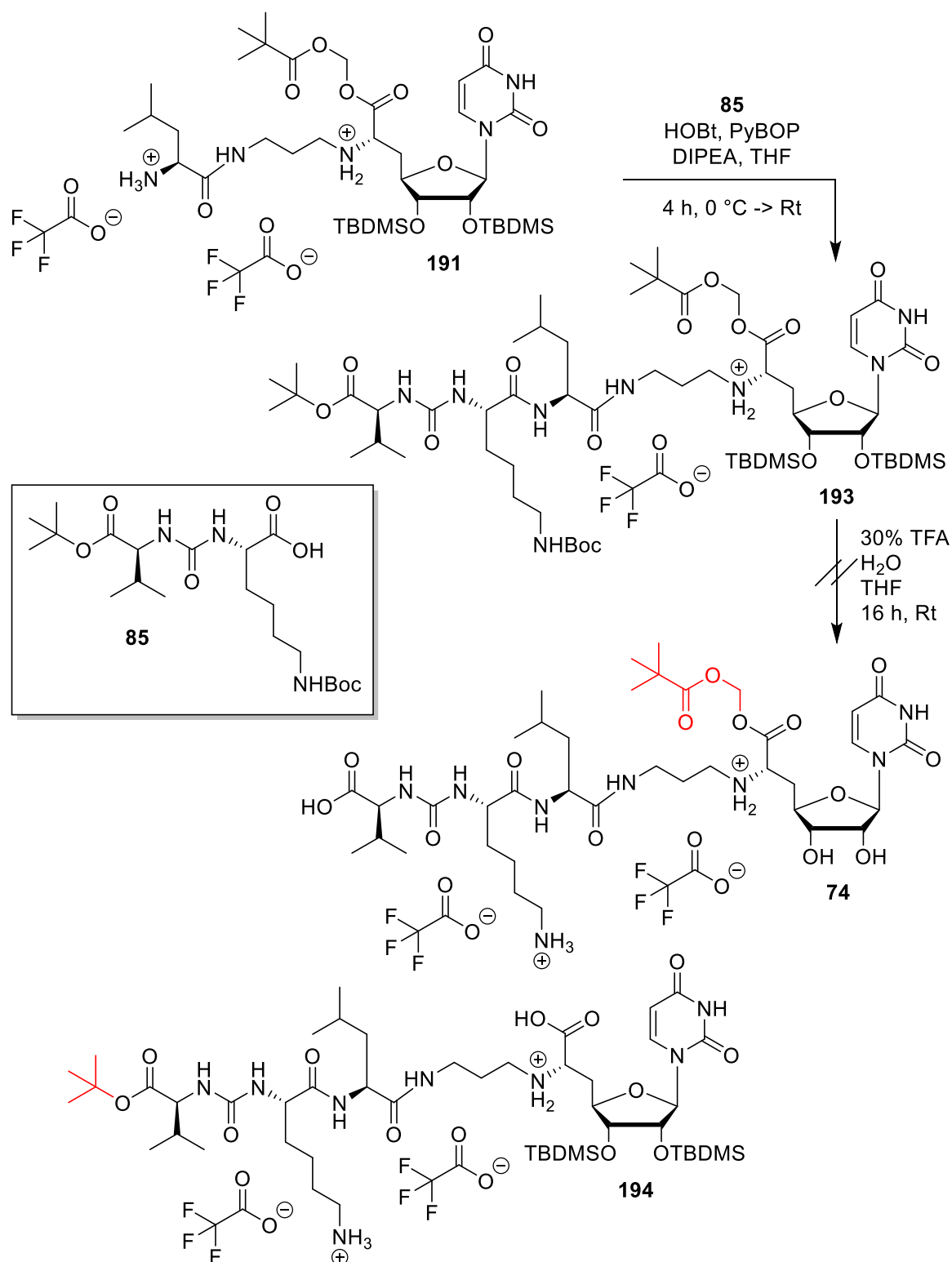


Abb. 4.51 Syntheseversuch des Mono-POM-Muraymycin-Prodrugs **74**.

TFA-Salzes **191** in Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur konnte das vollständig geschützte Mono-POM-Prodrug **193** isoliert werden (Abb. 4.51), was anhand massenspektrometrischer Untersuchungen zweifelsfrei belegt werden konnte. Auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung wurde

aufgrund der Komplexität der Spektren verzichtet. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine sehr gute Ausbeute von ca. 80% bestimmt. Da eine genaue Ausbeutebestimmung nur anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen möglich gewesen wäre, wurde die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.51 angegeben. Durch diese Reaktion konnte noch einmal gezeigt werden, dass diese Art von Kupplungen, für die leicht basische Bedingungen benötigt werden, robuster mit stabileren Harnstoffdipeptiden wie dem *tert*-Butylester-Harnstoffdipeptid **85**, als mit POM-haltigen Derivaten wie dem Harnstoffdipeptid **83** abliefen. Hier musste zudem nicht mit äquimolaren Mengen an Säure gearbeitet werden, um das entsprechende TFA-Salz am sekundären Amin des Nucleosyl-Aminosäure-Motives zu generieren (vgl. Kapitel 4.10.2).

Aus Entschützungsstudien zur globalen sauren Abspaltung der Schutzgruppen im letzten Schritt (vgl. Kapitel 4.9.2) war bekannt, dass sich die TBDMS-Ether und die *N*-Boc-Gruppe unter mild sauren Bedingungen von 20% TFA in Wasser abspalten ließen, was in der Synthese des Bis-POM-Prodrugs **73** noch einmal belegt werden konnte (vgl. Kapitel 4.10.2). Es musste jedoch auch festgestellt werden, dass die Abspaltung der terminalen *tert*-Butylgruppe des geschützten Mono-POM-Prodrugs **193** bei kurzen Reaktionszeiten harschere Bedingungen von 60% TFA in Wasser erfordern würde. Aufgrund der bisher gemachten Erfahrungen mit der Säurelabilität der POM-Ester galt es als äußerst fraglich, ob diese solchen Bedingungen standhalten würden. Aus diesem Grund sollte zunächst ein Mittelweg gewählt werden, wobei die Abspaltung der Schutzgruppen mit 30% TFA in Wasser bei längerer Reaktionszeit erfolgen sollte. Das geschützte Prodrug **193** wurde in 30% TFA in Wasser (5 mL) und Tetrahydrofuran (1.5 mL) gelöst und nach 16 h eine Reaktionskontrolle mittels LC-MS-Analyse durchgeführt. Hierbei konnten eindeutig zwei Hauptverbindungen ausgemacht werden. Diese überlagerten sich jedoch im UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) und ließen sich nicht voneinander trennen. Daher konnte nicht bestimmt werden, in welchem Verhältnis die beiden Verbindungen zueinander entstanden waren. Massenspektrometrisch konnte jedoch eindeutig belegt werden, dass es sich bei der einen Verbindung um das gewünschte Produkt **74** handelte. Die zweite Verbindung war das Derivat **194**, bei dem der POM-Ester bereits gespalten, der *tert*-Butylester jedoch im Molekül verblieben war (Abb. 4.51). Vor dem Hintergrund weiterer Studien war dies ein ungünstiges Ergebnis. Wäre die zweite Hauptverbindung die vollständig entschützte Stammverbindung **76** gewesen, in der sowohl der *tert*-Butylester als auch der POM-Ester gespalten gewesen wären, hätte die

Möglichkeit bestanden, die Bedingungen noch einmal im Sinne einer milderen Entschützung anzupassen. Da bei gewählter Reaktionsführung mit 30% TFA in Wasser der POM-Ester schon gespalten wurde, während die *tert*-Butylgruppe sich noch als stabil erwies, wurde auf eine Optimierung der Bedingungen an dieser Stelle verzichtet.

Daraufhin wurde überlegt die Schutzgruppen-Strategie anzupassen, von einer einstufigen auf eine zweistufige Entschützung zu wechseln und dafür den *tert*-Butylester im Harnstoffdipeptid **85** durch einen Benzylester zu ersetzen. Dieser sollte sich abschließend unter den milden und bereits optimierten hydrogenolytischen Entschützungsbedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.2) mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.), Palladium Black und Trifluoressigsäure in *iso*-Propanol abspalten lassen. Anschließend sollten dann die milden

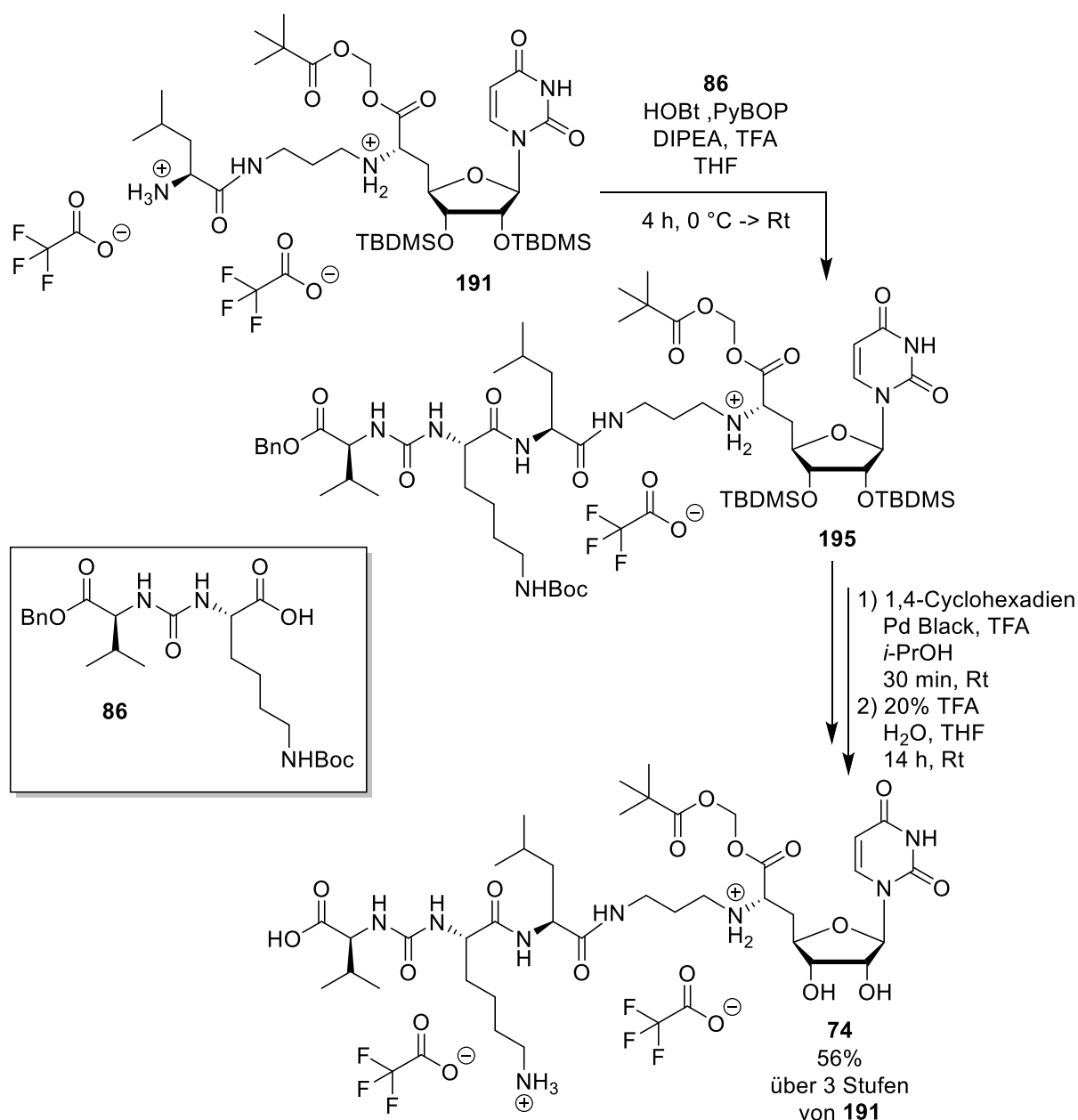


Abb. 4.52 Synthese des Mono-POM-Muraymycin-Prodrugs **74**.

sauren Entschützungsbedingungen mit 20% TFA in Wasser, die schon in der Synthese des Bis-POM-Prodrugs **73** Anwendung gefunden hatten (vgl. Kapitel 4.10.2), ausreichen, um die TBDMS-Ether und die *N*-Boc-Schutzgruppe zu spalten und das Mono-POM-Prodrug **74** zu generieren. In diesem Zuge war bereits das entsprechende Benzylester-Harnstoffdipeptid **86** synthetisiert worden (vgl. Kapitel 4.6.2), das nun in bekannter Vorgehensweise^[132] mit dem Bis-TFA-Salz **191** gekuppelt wurde. Da sich der Zusatz von Trifluoressigsäure am Ende der Reaktion in der Synthese des Bis-POM-Prodrugs **73** als der Ausbeute zuträglich erwiesen hatte (vgl. Kapitel 4.10.2), wurde diese optimierte Reaktionsführung auch im vorliegenden Fall angewendet. Auf diese Weise wurde das terminal Benzylester-geschützte Mono-POM-Prodrug als TFA-Salz **195** isoliert (Abb. 4.52), was anhand massenspektrometrischer Untersuchungen zweifelsfrei belegt werden konnte. Auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung wurde aufgrund der Komplexität der Spektren verzichtet. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine sehr gute Ausbeute von ca. 80% bestimmt. Da eine genaue Ausbeutebestimmung nur anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen möglich gewesen wäre, wurde die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.52 angegeben. Diese Angabe erfolgte erst für das Mono-POM-Prodrug **74** über 3 Stufen von Bis-TFA-Salz **191** (Abb. 4.52).

In der abschließenden zweistufigen Entschützung wurde das TFA-Salz **195** zunächst in *iso*-Propanol gelöst und mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und äquimolaren Mengen an TFA versetzt, bevor die Reaktion durch die Zugabe von Palladium Black gestartet wurde. Bereits nach 30 min konnte ein vollständiger Umsatz beobachtet werden und das gewünschte Spaltungsprodukt nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten werden. Dieses wurde direkt weiter umgesetzt, dazu in Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst und mit 20% TFA in Wasser (4.5 mL) für 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach semipräparativer HPLC-Reinigung konnte das Mono-POM-Prodrug **74** auf diese Weise in einer guten Ausbeute von 56% über 3 Stufen von **191** erhalten werden (Abb. 4.52).

Das Mono-POM-Prodrug **74** war zudem die Verbindung, die bei der Synthese des Bis-POM-Prodrugs **73** (vgl. Kapitel 4.10.2) zu einem geringeren Anteil entstanden war (Abb. 4.49), was an dieser Stelle anhand der Retentionszeiten der Verbindungen mithilfe von Koinjektionsversuchen einer LC-MS-Analyse mit der Reaktionsmischung der Synthese des Bis-POM-Prodrugs **73** (Abb. 4.49) gezeigt werden konnte. Daraus konnte wiederum geschlussfolgert werden, dass der POM-Ester, der die Carboxyl-Funktion des Nucleosyl-

Aminosäure-Motives maskierte, leichter sauer spaltbar war. Ein Zusammenhang mit dem bereits erwähnten ungewöhnlichen Verhalten des Amins des Nucleosyl-Aminosäure-Motives (vgl. Kapitel 4.8.1.3) war dabei nicht auszuschließen. Diese Schlussfolgerung war auch mit der Beobachtung kongruent, dass das Bis-POM-Prodrug **73** in Wasser zum Mono-POM-Prodrug **75** mit terminaler POM-Gruppe zerfiel. Das Mono-POM-Prodrug **74** hingegen zerfiel zur Stammverbindung **76**. Dies konnte festgestellt werden, wenn die Verbindungen länger in NMR-Proben mit deuteriertem Wasser verblieben. Zuletzt stimmte diese Beobachtung auch mit der Reaktivität der Verbindung **194**, dem Vorläufer der Stammverbindung **76**, in globalen sauren Entschützungen überein. Dabei waren für die Abspaltung des *tert*-Butylesters des Nucleosyl-Aminosäure-Motives ~ 40% TFA in Wasser, für die des terminalen *tert*-Butylesters sogar ~ 60% TFA in Wasser nötig (vgl. Kapitel 4.9.2).

4.10.4 Synthese des Mono-POM-Prodrugs **75**

Um die Reihe der POM-Prodrugs zu vervollständigen sollte zuletzt die Zielverbindung **75** mit einem POM-Ester, der die terminale Carboxyl-Gruppe der Peptidkette maskierte, generiert werden. Da eine globale saure Entschätzung mit *tert*-Butylestern und POM-Estern im

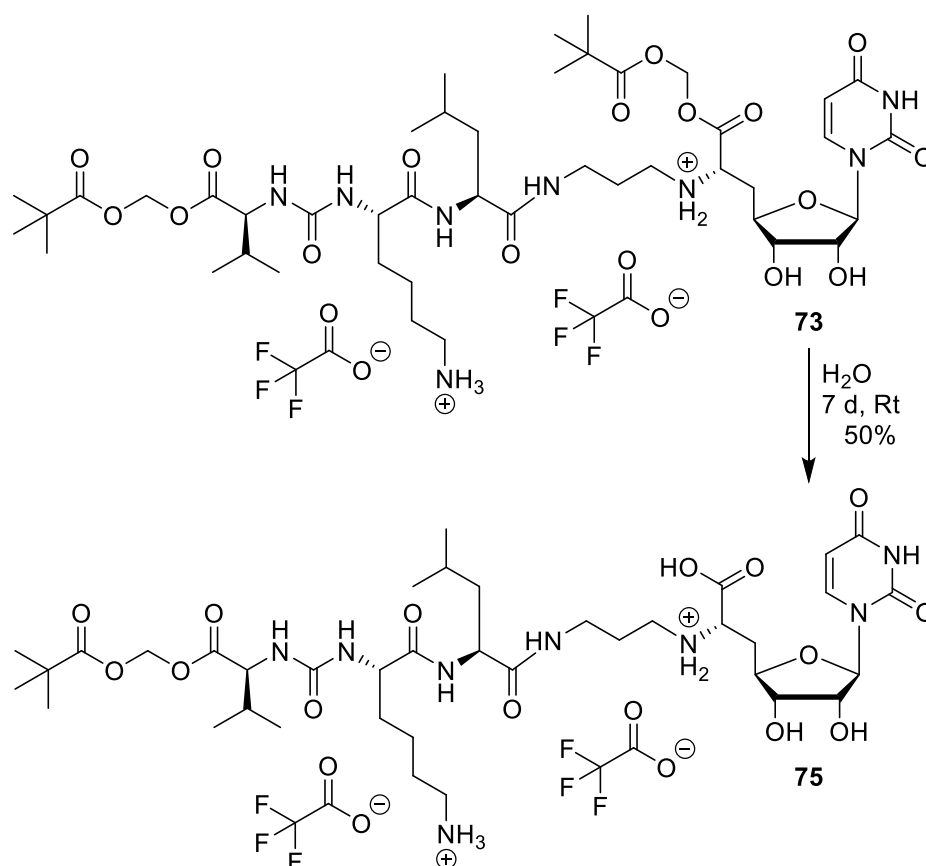


Abb. 4.53 Synthese des Mono-POM-Muraymycin-Prodrugs **75**.

Molekül wenig sinnvoll erschien (vgl. Kapitel 4.10.2), sollte aufgrund der größeren Instabilität des POM-Esters an der Carboxyl-Gruppe des Nucleosyl-Aminosäure-Motives versucht werden, die Zielverbindung **75** ausgehend vom Bis-POM-Prodrug **73** darzustellen. Da eine Abspaltung besagter POM-Gruppe schon in Wasser möglich war, wurde das Bis-POM-Prodrug **73** für 7 d in Wasser gerührt. Anhand von LC-MS-Analysen wurde ein vollständiger Umsatz festgestellt und das gewünschte Mono-POM-Prodrug **75** nach semipräparativer HPLC-Reinigung in einer Ausbeute von 50% isoliert (Abb. 4.53).

4.10.5 Biologische Evaluierung der Muraymycin-Prodrugs

Die biologische Evaluierung wurde in der Arbeitsgruppe Ducho von S. Koppermann und J. Ludwig durchgeführt. Es wurden die inhibitorischen *in vitro*-Aktivitäten gegenüber einer Membranpräparation von *MraY* aus *S. aureus* in einem Fluoreszenz-basierten Assay^[68,69] bestimmt. Die Werte sind in Abb. 4.54 aufgeführt.

Aufgrund der POM-Maskierung der Prodrugs wurde erwartet, dass diese keine oder eine sehr geringe inhibitorische Aktivität gegenüber *MraY* aus *S. aureus* aufweisen, was für **73** und **75** auch der Fall war. Dass das Mono-POM-Prodrug **74** eine Aktivität ($IC_{50} = 5.7 \pm 0.8 \mu M$, *MraY* aus *S. aureus*) aufwies, die ca. halb so hoch war wie die der freizusetzenden Stammverbindung **76** ($IC_{50} = 2.5 \pm 0.6 \mu M$, *MraY* aus *S. aureus*), überraschte, denn dies sollte aufgrund später festgestellter Puffer-Halbwertszeiten (> 8 h, Tab. 4.8) kein Effekt einer möglichen chemischen Hydrolyse der POM-Gruppe sein. Die an der Nucleosyl-Aminosäure POM-modifizierte Verbindung **74** schien somit auch ein potenter *MraY*-Inhibitor zu sein, wobei nicht sicher auszuschließen war, dass die Membranpräparation noch mit restlicher Esterase verunreinigt gewesen und somit das Prodrug gespalten worden sein könnte.

Für die antibakterielle Aktivität wurden gegen mehrere Bakterienstämme Minimale Inhibitorische Konzentrationen (MIC) bestimmt. Als Gram-negative Bakterien wurden *E. coli* DH5 α und *E. coli* $\Delta tolC$ verwendet. Letzterer zeichnet sich durch das Fehlen der TolC-Effluxpumpe aus. Als Gram-positiver Stamm wurde gegen *B. subtilis* gemessen.

73 und **74** wiesen eine moderate Aktivität gegen *E. coli* $\Delta tolC$ auf (MIC (**73**) = 25 $\mu g/mL$, MIC (**74**) = 32 $\mu g/mL$), wohingegen die freizusetzende Stammverbindung **76** quasi inaktiv war (MIC = 100 $\mu g/mL$). Es wurde vermutet, dass für die Stammverbindung **76** keine hinreichende Zellaufnahme stattfand (Abb. 4.54), die Zellgängigkeit mithilfe der Prodrug-Maskierungen jedoch verbessert werden konnte, was in erster Linie darauf hindeutet, dass die Anwendung des Prodrug-Konzeptes auf die Muraymycine erfolgreich war. Möglich wäre

jedoch, dass ein enzymatischer Abbau des Bis-POM-Prodrugs **73** zum Mono-POM-Prodrug **74** schon außerhalb der Bakterienzelle stattfinden und anschließend die Zellaufnahme

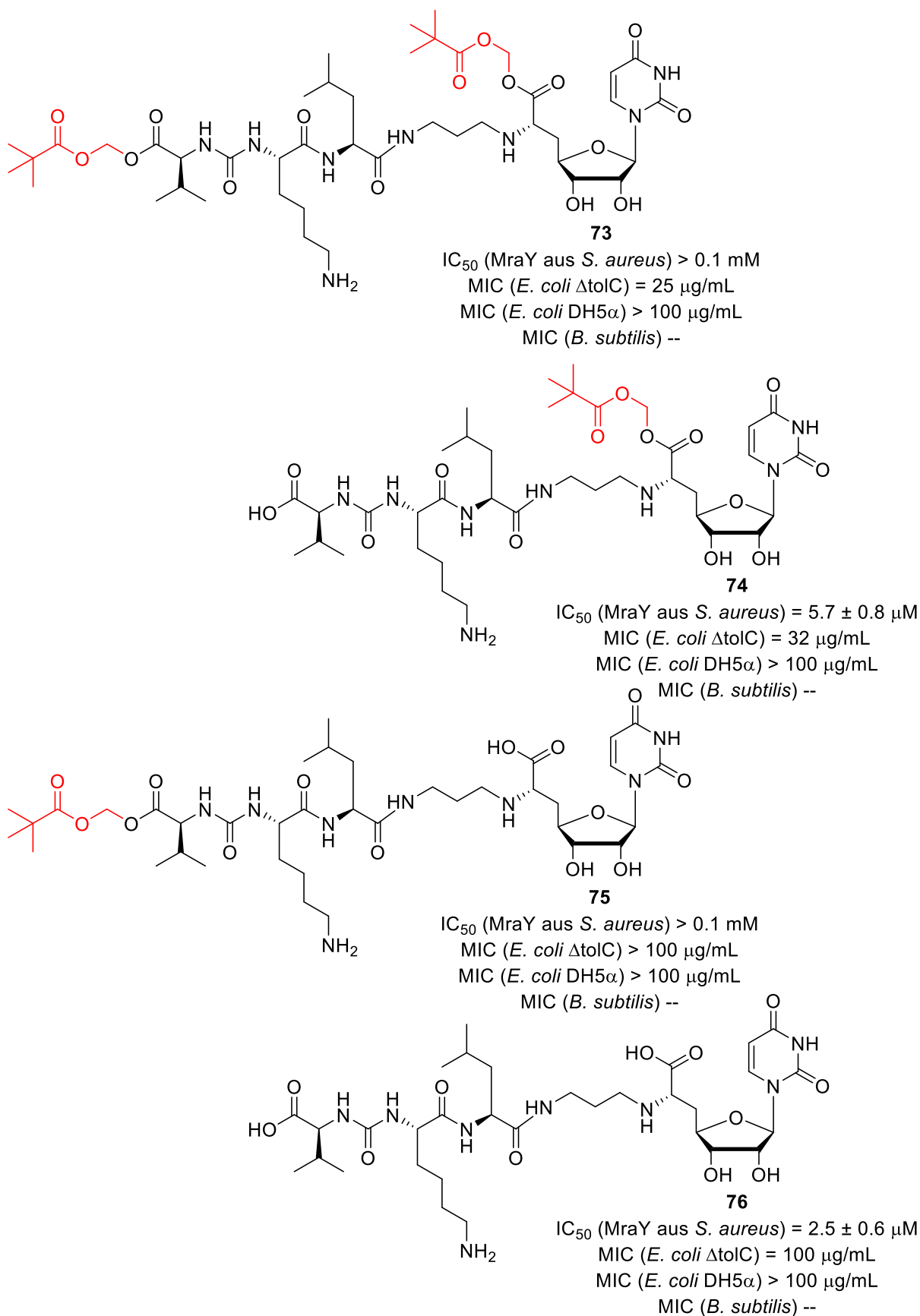


Abb. 4.54 Biologische Evaluierung der Muraymycin-Prodrugs.

von **74** erfolgen könnte, womit die antibakterielle Aktivität des Bis-POM-Prodrugs **73** ebenfalls zu begründen wäre. Bei einem solchen Szenario wäre zu bedenken, dass diese Aktivität von **73** möglicherweise nur aufgrund der antibakteriellen Aktivität des Mono-POM-Prodrugs **74** zustande käme und **73** somit gar kein "echtes" Prodrug mit intrazellulärer Freisetzung der inhibitorisch aktiven Komponente wäre.

Dass **75** inaktiv gegen *E. coli* Δ tolC war (MIC > 100 µg/mL) deutet darauf hin, dass die POM-Gruppe an der Nucleosyl-Aminosäure bei der Zellaufnahme eine größere Rolle spielt als die terminale POM-Gruppe an der Peptidkette und **75** somit vermutlich nicht in die Zelle gelangte. Aufgrund dieser Herleitungen in Kombination mit der später gemachten Beobachtung, dass das Bis-POM-Prodrug **73** schon in reinem LB-Nährmedium instabil zu sein scheint (weitere Ausführungen dazu s.u.), wurde vermutet, dass die POM-Maskierung an der Peptidkette zuerst enzymatisch gespalten wird. Würde ein Abbau der Verbindung **73** zur Verbindung **75** schon vor Eintritt in die Bakterienzelle stattfinden, würde das Bis-POM-Prodrug **73** eingedenk der Inaktivität von **75** vermutlich keine antibakterielle Aktivität aufweisen (Abb. 4.54). Diese Annahme würde vor dem Hintergrund sinnvoll sein, dass Esterasen bevorzugt sterisch weniger gehinderte Gruppen am Carboxylende spalten, was in der Literatur belegt ist.^[159,205,206] Definitive Aussagen können jedoch erst getroffen werden, wenn weitere quantifizierbare Messungen zur Spaltungskinetik im intrazellulären und extrazellulären Medium vorliegen, die nicht mehr Gegenstand dieser Arbeit waren. Da der Vorteil einer POM-Maskierung der Carbonyl-Gruppe der Peptidkette eher begrenzt zu sein scheint, könnte in Zukunft erwogen werden, ob eine Maskierung am Nucleosyl-Aminosäure-Motiv ausreicht. Dass im Vergleich zur Δ tolC-Mutante gegen *E. coli* DH5 α keine Aktivität gefunden werden konnte, deutet darauf hin, dass hier Efflux-Effekte der in DH5 α enthaltenen Efflux-Pumpe TolC eine Rolle spielen könnten, sodass die Wirkstoffe aus der Zelle hinaus transportiert würden. Gegen den Gram-positiven Erreger *B. subtilis* konnte keine Aktivität festgestellt werden. Ob an dieser Stelle die Zellgängigkeit oder aber Efflux und Abbau eine Rolle spielten, konnte nicht geklärt werden.

Zusammenfassend konnte anhand dieser Daten zur antibakteriellen Aktivität belegt werden, dass sich in der Tat durch die Anwendung des Prodrug-Konzeptes aus bisher inaktiven Verbindungen, wie dem Muraymycin-Analogen **76**, mithilfe von Maskierungen aktive antibiotische Wirkstoffe generieren lassen. Dies unterstützt weiter die These, dass die Zellaufnahme eine entscheidende Rolle bei der antibakteriellen Wirkung der Muraymycin-Analoga spielt.

Die Stabilitätstests der Muraymycin-Prodrugs wurden in der Arbeitsgruppe Ducho von Dr. S. Boettcher und M. Jankowski durchgeführt. Diese Untersuchungen sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht vollständig abgeschlossen werden, vielmehr wurden lediglich erste Einblicke angestrebt. Die freizusetzende Stammverbindung **76** diente als Referenz. In Pufferstabilitätsmessungen (LC-UV / LC-MS/MS) konnte festgestellt werden, dass alle drei Prodrugs stabil waren ($t_{(1/2)} > 8$ h) (Tab. 4.8). Vor dem Hintergrund weiterer Stabilitätsmessungen war dies eine wichtige Erkenntnis. Anschließende Stabilitätsmessungen in humanem Plasma (LC-MS/MS) blieben erfolglos, da die eingesetzten Prodrugs bereits zum Start der Messungen nicht mehr detektiert werden konnten.

Tab. 4.8 Stabilitätstests der Muraymycin-Prodrugs.

	73	74	75	76
Puffer $t_{(1/2)}$ [h]	> 8 h	> 8 h	> 8 h	> 8 h
humanes Serum $t_{(1/2)}$ [min]	n.b.	~ 4 min ^a 76 : ~ 18 μ M ^b	n.b.	> 150 min

a: Vermutung einer hohen Plasmaproteinbindung

b: Gefundene Konzentration nach 150 min (Anfangskonzentration von **74**: 25 μ M)

n.b. = nicht bestimmt

Auch in verdünntem Plasma (1:10 in Wasser) war dies der Fall. Vermutet wurde hier, dass nicht der Abbau der Prodrugs für dieses Phänomen verantwortlich war, da auch keine Stammverbindung **76** detektiert werden konnte. Vielmehr könnte eine hohe Plasmaproteinbindung vorliegen, bei der die Verbindungen unspezifisch an verschiedene im Plasma enthaltene Proteine binden und somit nicht mehr detektiert werden können. Um die Komplexität im Proteinmedium zu verringern, sollten im Folgenden die Stabilitäten in humanem Serum (1:10 in Wasser) betrachtet werden. Dabei wurde für **73** und **75** nur die Produktbildung detektiert, wobei im Fall von **74** sowohl Produkt als auch Edukt detektiert wurden (LC-MS/MS) (Tab. 4.8). Näherungsweise sollten bei der Bestimmung von Halbwertszeiten Kinetiken pseudo-erster Ordnung angenommen werden. Jedoch war es auch in diesem Fall schwierig Halbwertszeiten anzugeben, da die zeitliche Abnahme der Prodrug-Konzentration im Fall von **74** nicht mit der Zunahme der Bildung des Abbauproduktes **76** korrelierte. Dieser Umstand bestätigte noch einmal die Annahme einer hohen Plasmaproteinbindung. Hier wurde basierend auf der Konzentrationsabnahme des Prodrugs eine Halbwertszeit von ca. 4 min bestimmt (Tab. 4.8). Da als maximaler Wert aus einer anfänglichen Konzentration von 25 μ M an Prodrug **74** nur ungefähr 18 μ M (~ 72%) der

Stammverbindung **76** nach 150 min detektiert wurden, müssten noch ca. 28% von **74** intakt sein, was ungefähr einer Halbwertszeit von **74** aufgrund enzymatischer Spaltung von 100 min entsprechen würde. Für die Stammverbindung **76** wurde eine Halbwertszeit von >150 min bestimmt (Tab. 4.8). Bei **73** und **75** wurde das Edukt nicht quantifiziert, weshalb keine Halbwertszeiten bestimmt wurden (Tab. 4.8). Jedoch stellte sich auch die Detektion der entstehenden Abbauprodukte als schwierig und nicht eindeutig dar, weil stark voneinander abweichende Ergebnisse erhalten wurden, weshalb keine Quantifizierung oder tiefergehende Interpretation möglich war. Möglicherweise waren die Schwankungen in den Assays bei kleinen detektierten Substanzmengen zu groß, sodass die Werte sehr stark fehlerbehaftet waren. Auf Grundlage dieser Messungen, in denen im Fall von **73** und **75** kaum Produkte detektiert werden konnte, wurde die These einer starken Plasmaproteinbindung auch in verdünntem humanem Serum (1:10 in Wasser) im Gegensatz zu einem schnellen Abbau weiter erhärtet. Dabei wurde postuliert, dass die POM-Maskierung am Peptidkettenende in **73** und **75** die Plasmaproteinbindung tendenziell weiter verstärkt, da für **74** eine Konzentrationsabnahme und die Bildung der Stammverbindung **76** beobachtet werden konnte. Auch an dieser Stelle sind weitere Messungen nötig um fundiert quantifizierbare Aussagen zur Spaltungskinetik treffen zu können. Diese waren jedoch nicht mehr Teil dieser Arbeit.

In ersten qualitativen Stabilitätsmessungen des Bis-POM-Prodrugs **73** in LB-Nährmedium, Zelllysate und mit Schweineleberesterase wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt und nach 30 min und 150 min analysiert (LC-MS/MS). Dabei waren die Messungen nach 30 min nicht hinreichend belastbar, da aufgrund der relativ kurzen Inkubationszeit teilweise nur geringe Mengen der entstehenden Substanzen detektiert werden konnten, was zu einem hohen Messfehler führte. Vor dem Hintergrund der langen Inkubationszeit in Messungen zur antibakteriellen Aktivität war es ohnehin naheliegender längere Zeiträume zu betrachten. Aus diesem Grund wurden nur die Messungen nach 150 min interpretiert. Im LB-Nährmedium konnte gezeigt werden, dass nach 150 min eines der Intermediate sowie die Stammverbindung **76** detektiert werden konnten (Abb. 4.55). Generell müsste an dieser Stelle noch einmal die Aussagekraft der in den antibakteriellen Messungen bestimmten MIC-Werte überprüft werden, da diese Tests bei 37 °C über 16 h in unterschiedlichen Konzentrationen im LB-Nährmedium stattfinden. Die eigentliche antibakterielle Wirkung der Prodrugs könnte somit noch weitaus höher sein, da ein Abbau bereits in diesem Nährmedium stattfand. Eine Änderung der Durchführung von weiteren Messungen mithilfe eines Agarplatten-Diffusionsassays wäre beispielsweise möglich. Aufgrund der bisher gemachten

4. Resultate und Diskussion

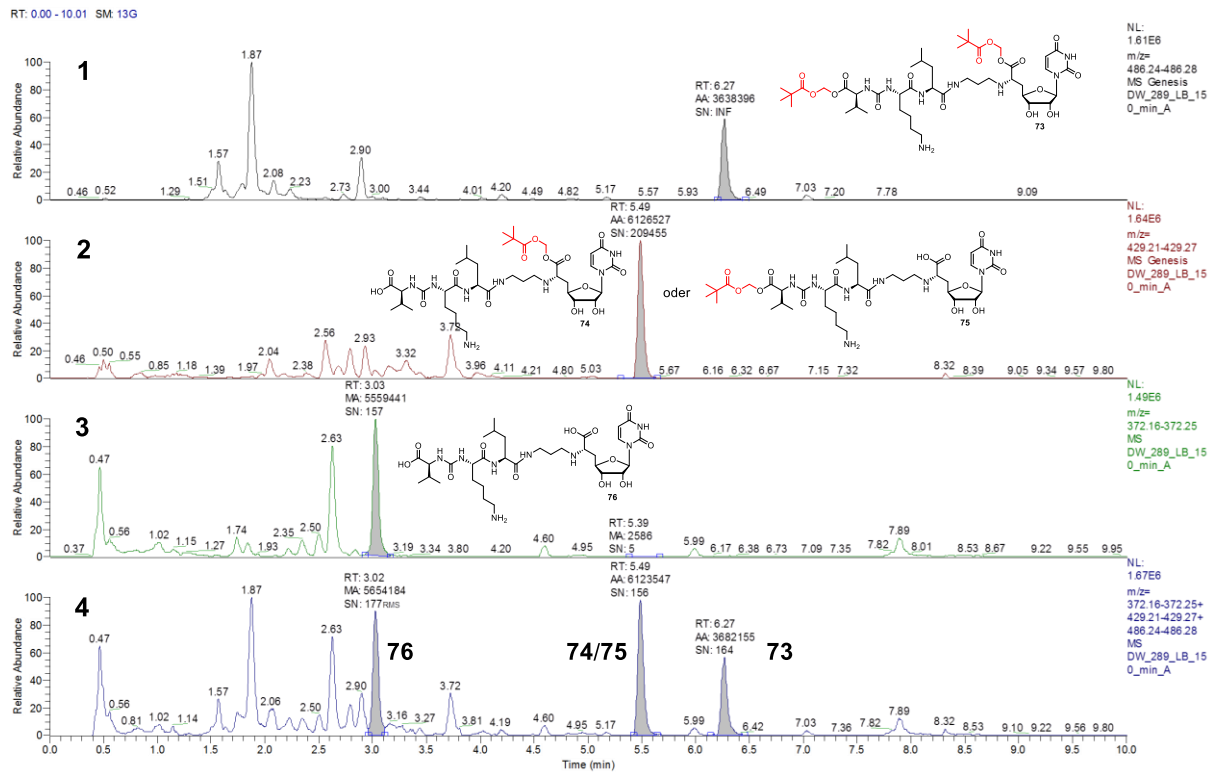


Abb. 4.55 Assay im LB-Nährmedium nach 150 min Inkubation: Chromatogramme über die Massen des Bis-POM-Prodrugs **73** (**1**), einer Mono-POM-Zwischenstufe (vermutlich **74**) (**2**), der gebildeten Stammverbindung **76** (**3**) sowie alle Chromatogramme übereinander gelegt (**4**).

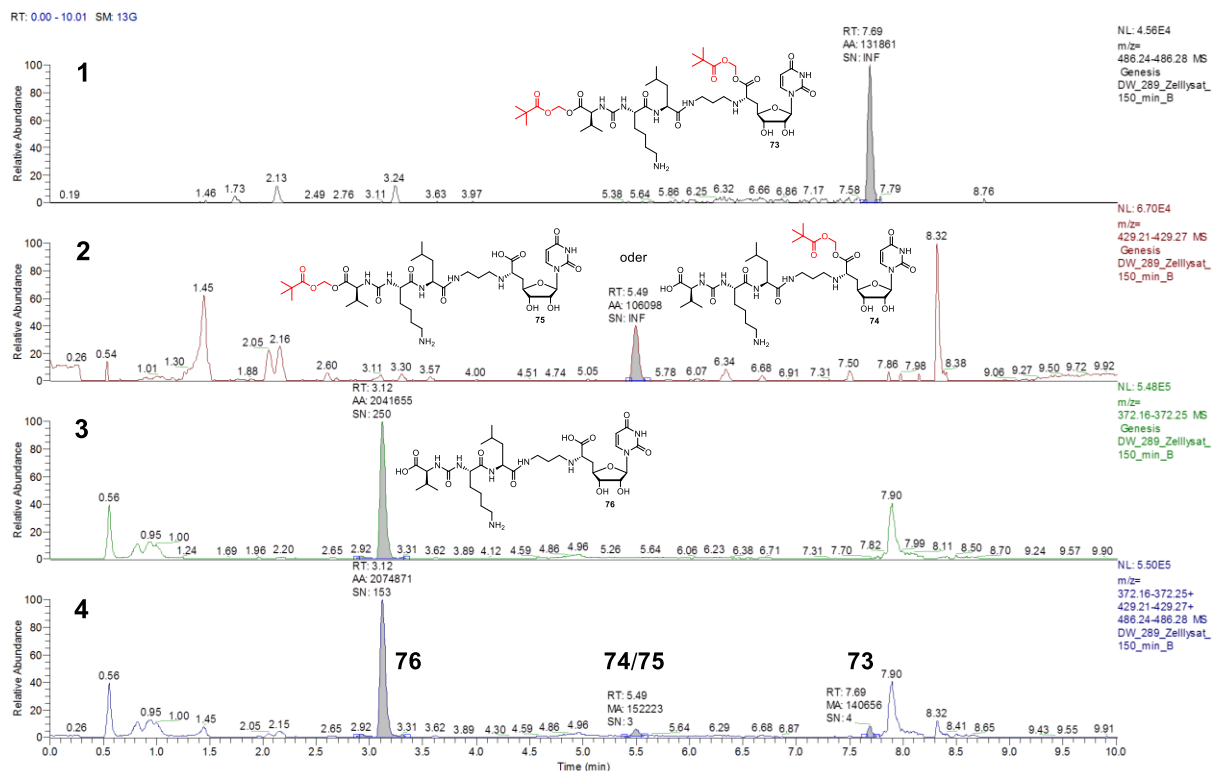


Abb. 4.56 Assay im *E. coli* Zelllysat nach 150 min Inkubation: Chromatogramme über die Massen des Bis-POM-Prodrugs **73** (**1**), einer Mono-POM-Zwischenstufe (vermutlich **74**) (**2**), der gebildeten Stammverbindung **76** (**3**) sowie alle Chromatogramme übereinander gelegt (**4**).

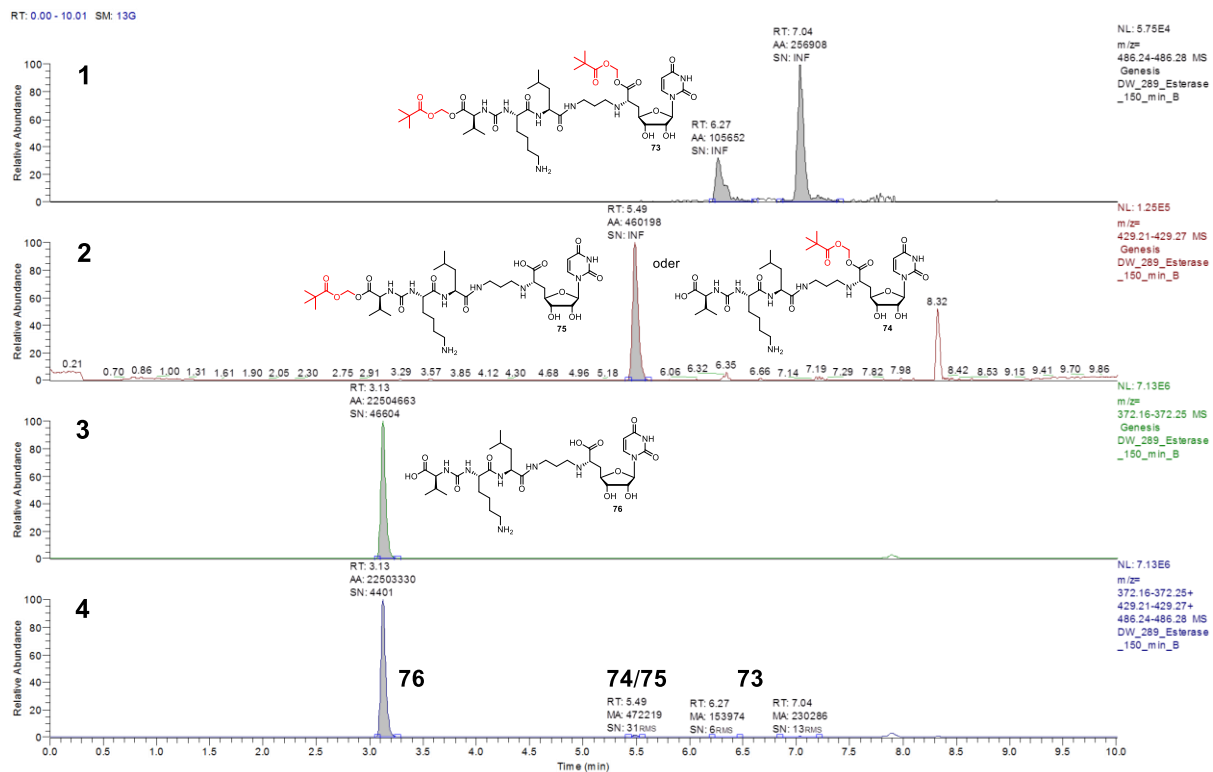


Abb. 4.57 Assay mit Schweineleberesterase nach 150 min Inkubation: Chromatogramme über die Massen des Bis-POM-Prodrugs **73** (1), einer Mono-POM-Zwischenstufe (vermutlich **74**) (2), der gebildeten Stammverbindung **76** (3) sowie alle Chromatogramme übereinander gelegt (4).

Beobachtungen zur antibakteriellen Aktivität erhöhte sich an dieser Stelle auch die Vermutung, dass es sich bei dem Intermediat wohl eher um die Verbindung **74** handeln dürfte, was im Folgenden hergeleitet werden soll. Aufgrund des relativ schnellen Abbaus des Bis-POM-Prodrugs **73** im Nährmedium würde auf der Grundlage des in eben diesem Medium durchgeführten Assays (16 h, 37 °C) Verbindung **74** extrazellulär entstehen, die anschließend in die Zelle gelangt und dort gespalten wird oder ihre eigene inhibitorische Wirkung entfaltet, was im Weiteren noch geklärt werden sollte. Würde im Nährmedium schnell Verbindung **75** mit terminaler POM-Gruppe freigesetzt werden, würde das Bis-POM-Prodrug **73** aufgrund der Inaktivität von **75** wahrscheinlich keine antibakterielle Aktivität aufweisen. Es muss an dieser Stelle festgehalten werden, dass dies Vermutungen bleiben. Sicher war jedoch, dass in weiteren Stabilitätsmessungen in Zelllysate und mit Schweineleberesterase jeweils nur ein Intermediat detektiert werden konnte, wobei es sich immer um dasselbe handelte, was anhand der Retentionszeiten ($t_R = 5.49$ min) festgestellt werden konnte (Abb. 4.55-4.57). Setzt man die Werte der entstandenen Verbindungen in ein Integralverhältnis **76/74** aus dem Massenchromatogramm lässt sich vermuten, dass nach Inkubation im LB-Nährmedium für 150 min tendenziell eher weniger Stammverbindung **76** als Intermediat **74** vorlag ($\mathbf{76/74} = 0.91$) (Abb. 4.58). Aufgrund einer möglicherweise unterschiedlichen Ionisierung der einzelnen Substanzen muss jedoch festgehalten werden, dass keine exakten

Stoffmengenverhältnisse betrachtet werden und diese Art der Auswertung der qualitativen Messungen höchstens semiquantitativ war, was im Folgenden für alle Auswertungen dieser Art galt. Da diese intrinsische Ungenauigkeit jedoch für alle Messungen galt, lassen sich relative Aussagen im Sinne von Tendenzen ableiten.

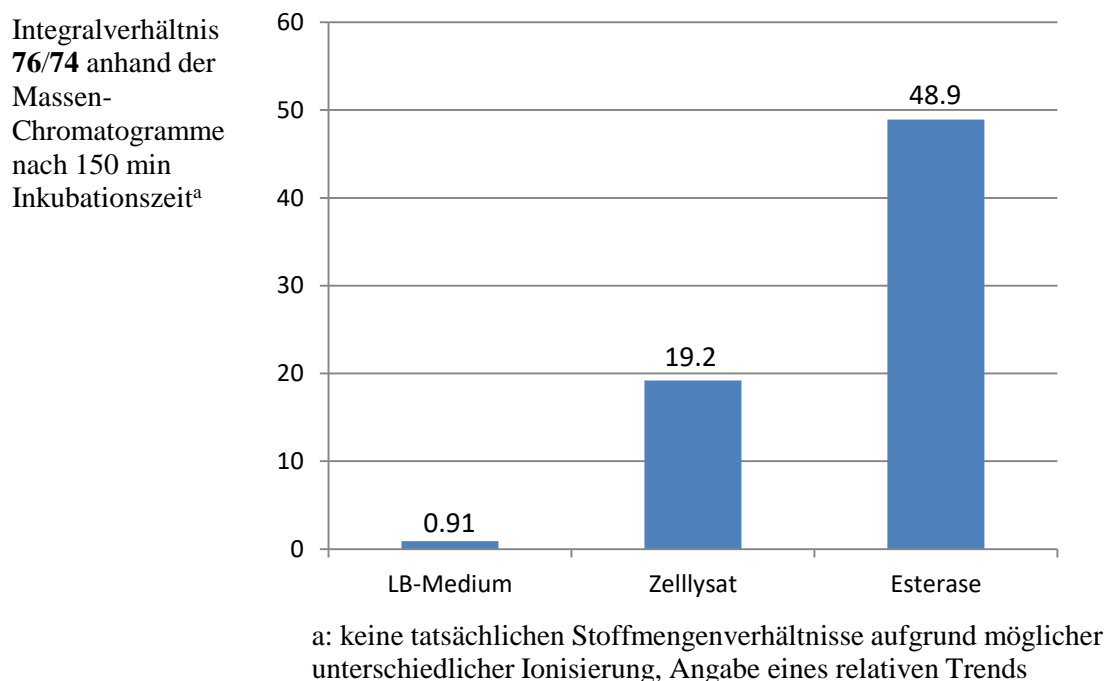


Abb. 4.58 Vergleich der Integralverhältnisse **76/74** der drei Stabilitätsmessungen.

Bei Stabilitätsmessungen in *E. coli*- Δ tolC-Zelllysate konnte nach 150 min die Bildung des Intermediates (vermutlich **74**) sowie der Stammverbindung **76** gezeigt werden (Abb. 4.56). Erneut wurde das Integralverhältnis der entstehenden Verbindungen gebildet (**76/74** = 19.2), wobei in diesem Fall das Verhältnis sehr groß war, was bedeutete, dass im Vergleich wesentlich mehr Stammverbindung **76** entstanden sein müsste (Abb. 4.58). Generell schienen die detektierten Mengen der Verbindungen im Zelllysate geringer zu sein, was damit zusammenhängen könnte, dass der Massendetektor aufgrund des komplexen Mediums unempfindlicher wurde.

Zuletzt wurde in ersten qualitativen Tests in einem sehr vereinfachten artifiziellen System von Schweineleberesterase in Tris-Puffer der Abbau des Bis-POM-Prodrugs **73** durch die Esterase überprüft. Wiederum konnten ein Intermediat (vermutlich **74**) und eine signifikante Menge der freizusetzenden Stammverbindung **76** detektiert werden (Abb. 4.57). Erneut war das Verhältnis der Stammverbindung zum Intermediat (**76/74** = 48.9) sehr groß und noch einmal wesentlich weiter in Richtung der Stammverbindung **76** verschoben als im Zelllysate (Abb. 4.58). Dies könnte dadurch begründet werden, dass möglicherweise die

Schweineleberesterase eine höhere spezifische Aktivität aufweist. Andererseits könnte die Konzentration an Esterase im Tris-Puffer (1 U/ 40 µL) größer als die Konzentration an Esterase im Zelllysats gewesen sein. Prinzipiell war aber der Beweis erbracht, dass sich diese Art von Muraymycin-Prodrugs von Schweineleberesterase abbauen lassen, was noch einmal belegt, dass die Anwendung des Prodrug-Ansatzes von Muraymycinen im Sinne einer POM-Maskierung möglich sein sollte.

Beim Vergleich der beschriebenen semiquantitativen Auswertung anhand der Integralverhältnisse der Massenchromatogramme (Abb. 4.58) der drei Stabilitätsmessungen unter dem Vorbehalt einer möglicherweise unterschiedlichen Ionisierung fiel auf, dass sich im LB-Nährmedium das gebildete Intermediat **74** offensichtlich zunächst akkumulierte (**76/74**: nach 150 min: 0.91). Im Zelllysats war das Verhältnis wesentlich größer (**76/74**: nach 150 min: 19.2), was bedeutete, dass relativ betrachtet hier eher die Stammverbindung **76** akkumuliert vorlag (Abb. 4.58). Dies suggerierte, dass ein entstandenes Intermediat (wahrscheinlich **74**) im Zelllysats sehr schnell zur Stammverbindung **76** abgebaut zu werden scheint. In reiner Schweineleberesterase in Puffer war dieser Effekt, wie beschrieben, noch wesentlich ausgeprägter (**76/74**: nach 150 min: 48.9) (Abb. 4.58). Dieser Vergleich führte somit zu der Annahme, dass die Stammverbindung **76** intrazellulär anscheinend wesentlich schneller freigesetzt wird als extrazellulär, weshalb vermutet wurde, dass es sich bei den Verbindungen **73** und **74** um "echte" Prodrugs mit intrazellulärer Freisetzung der Stammverbindung **76** und einer von dieser Verbindung **76** ausgehenden inhibitorischen Aktivität handeln dürfte, da ein Intermediat **74** intrazellulär nicht lange genug Bestand haben sollte, um die antibakterielle Aktivität mittels Inhibition von MraY zu erzeugen.

Alle Beobachtungen zusammenfassend würde dies bedeuten, dass Bis-POM-Prodrug **73** schon im LB-Nährmedium partiell zur Verbindung **74** zerfällt und somit eventuell nicht vollständig intakt in die Bakterienzelle aufgenommen wird. **74** gelangt anschließend in die Zelle und wird schnell zur Stammverbindung **76** gespalten, die ihr inhibitorisches Potential entfalten kann. Die Maskierung der terminalen Carboxyl-Funktion an der Peptidkette zur Generierung von **73** wäre somit nicht zwingend nötig. Diese Vermutungen müssen jedoch mit höchster Vorsicht betrachtet werden, da festgehalten werden muss, dass sich anhand der diskutierten qualitativen Messungen noch keine absoluten Aussagen treffen lassen. Daher sind weitere Tests mit entsprechender Kalibration und der Bestimmung exakter Halbwertszeiten im intrazellulären und extrazellulären Medium nötig, um eine saubere Quantifizierung der Ergebnisse zu erlangen. Diese Untersuchungen sollten jedoch nicht mehr Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein.

4.11 Synthese der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga

Die bisher gemachten Beobachtungen zur Aktivität und zur Zellgängigkeit der Muraymycine zeigen auf, dass vereinfachte Muraymycin-Analoga wie das in der Arbeitsgruppe Ducho synthetisierte 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **40**^[132] eine gute inhibitorische *in vitro*-Aktivität (MraY aus *S. aureus*) aufweisen, die Aminoribose jedoch offensichtlich einen Beitrag zur Bindung an MraY leistet, da die Aktivität für Muraymycin D2 **22** (MraY aus *B. subtilis*) höher ist.^[171] Daher sollten in diesem Teil der Dissertation neue aminoribosylierte Muraymycin-Analoga entwickelt werden, um weitere Einblicke in die Rolle der Aminoribose und in die Signifikanz ihrer Position innerhalb des Moleküls zu erlangen.

4.11.1 Synthese des 6'-N-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **89** und des 6'-N-verlinkten deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **91**

Im 6'-N-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **89** sollte das Aminoribose-Motiv über einen Propylrest als Spacer an das Molekül gebunden werden. Auf diese Weise sollte eine Beweglichkeit der Aminoribose-Einheit und somit eine gewisse konformationelle Flexibilität der Muraymycin-Analoga für die Bindung an das zu inhibierende Enzym MraY gewährleistet werden. Der Aminoribose-Rest sollte so eine optimale Position im aktiven Zentrum des Enzyms einnehmen. Vor dem Hintergrund der ebenfalls konformationellen Plastizität von MraY^[105] erschien ein solcher Syntheseansatz plausibel. Als Referenz sollte weiterhin die analoge Verbindung **91** dargestellt werden, die sich zur Verbindung **89** nur durch das Fehlen der Aminoribose auszeichnen sollte, wobei der Propyllinker verblieb und mit einem primären Alkohol enden sollte. Dies sollte auch Aufschluss über den Einfluss des Linkers selbst auf die Aktivität einer derartigen Verbindung geben.

Auf dem Weg zum vollständig geschützten verkürzten 6'-N-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **196** konnte bereits in Vorarbeiten festgestellt werden, dass nicht auf die bereits dargestellte N-Cbz-geschützte L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **181** zurückgegriffen werden konnte (Abb. 4.59). In diesem Zusammenhang wurden bereits mehrere Versuche einer Optimierung der etablierten Reaktionsbedingungen

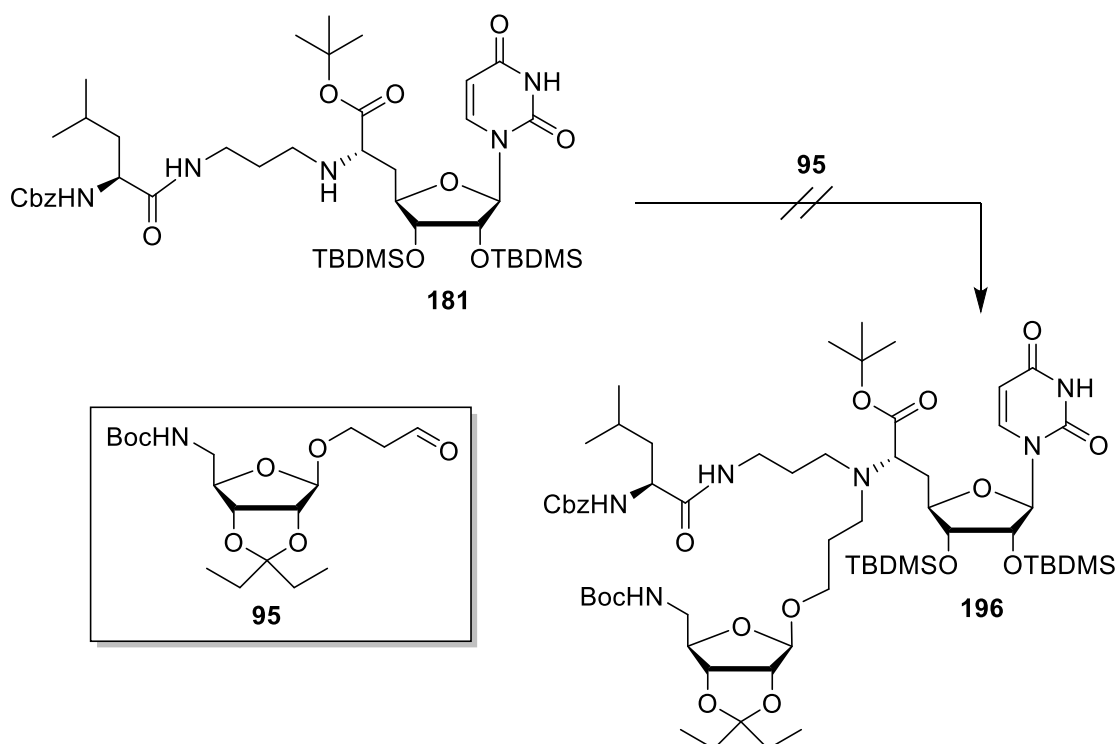


Abb. 4.59 Versuche zur zweiten reduktiven Aminierung mit dem Aldehyd **95**.

unternommen.^[173] Auch eine von Drouillat und Mitarbeitern entwickelte Methode führte nicht zum Erfolg.^[173,207]

Im Folgenden konnte herausgefunden werden, dass eine Umkehrung der Reihenfolge der reduktiven Aminierungen gelang und im gewünschten Produkt **196** resultierte.^[173] Da sich reduktive Aminierungen mit dem L-Leucin-abgeleiteten *N*-Cbz-geschützten Aldehyd **88** in der Arbeitsgruppe Ducho im Allgemeinen als robust erwiesen hatten, erfolgte diese nun als zweites. Die erste reduktive Aminierung wurde zunächst mit der Nucleosyl-Aminosäure **43** und dem Aldehyd **95** unter den bekannten Reaktionsbedingungen durchgeführt. Auf diese Weise wurde das gewünschte sekundäre Amin **197** in einer zunächst nur moderaten Ausbeute von 49% erhalten, die in weiteren Reaktionen dieser Art mit frischem Natriumtriacetoxyborhydrid (vgl. Kapitel 4.9.1.1) noch auf gute 76% verbessert werden konnte (Abb. 4.60). Das Gelingen dieser Reaktion zeigte somit, dass sich der Aminoribose-abgeleitete Aldehyd **95** generell in analoger Weise wie der *N*-Cbz-geschützte L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **88** für die reduktive Aminierung primärer Amine eignet.

In einer zweiten reduktiven Aminierung des sekundärenamins **197** mit dem *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** sollte nun die zweifach *N*-alkylierte Verbindung **196** generiert werden.

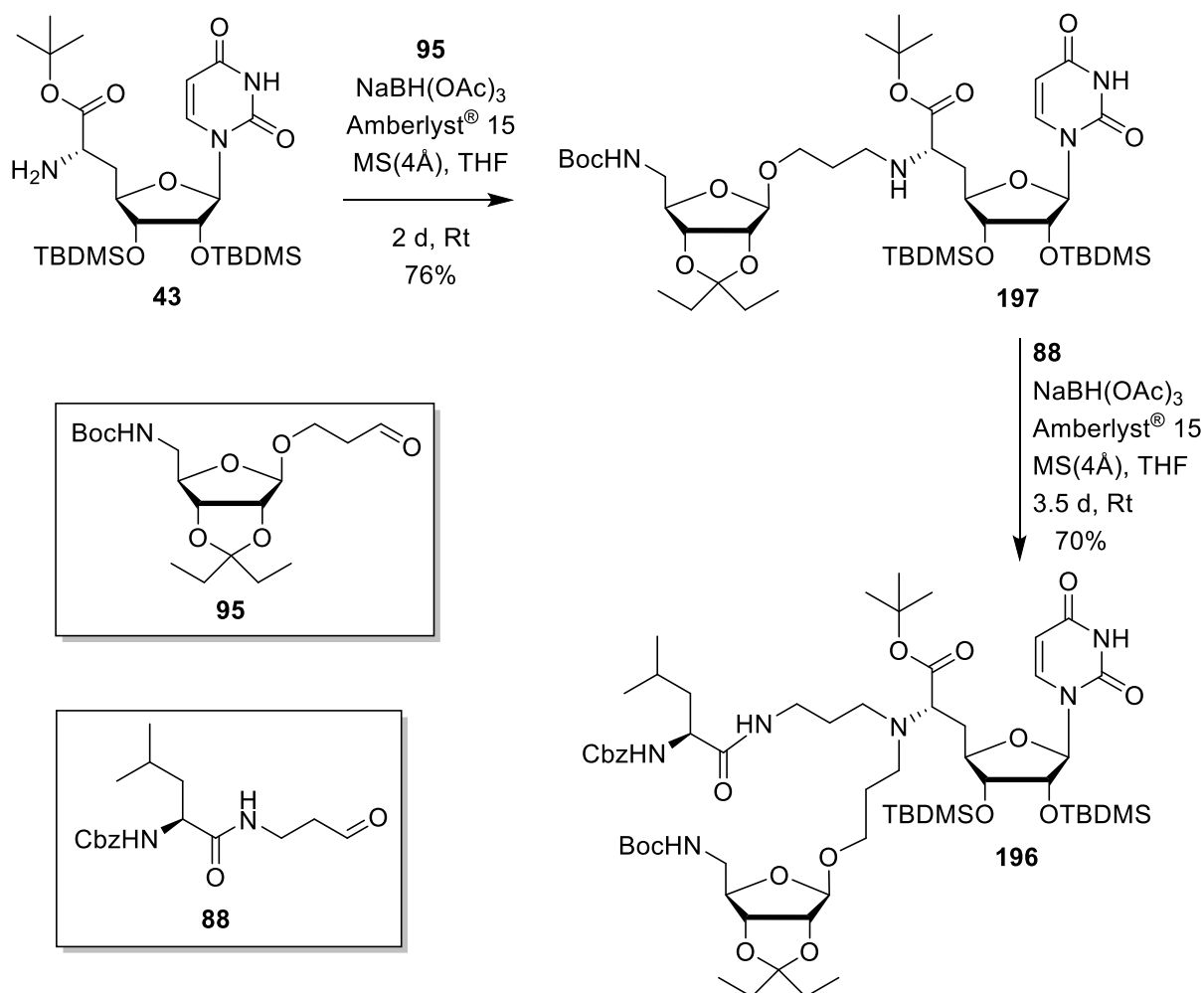


Abb. 4.60 Synthese des verkürzten 6'-N-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycins **196**.

Die etablierten Reaktionsbedingungen für die reduktive Aminierung wurden dabei nur dahingehend modifiziert, dass die Reaktionszeit zur Bildung des Iminium-Ions von 23 h auf 2 d verlängert wurde, da aufgrund einer höheren sterischen Hinderung des sekundären Amins **197** die Reaktion eventuell langsamer verlaufen könnte (Abb. 4.60). Nach Zugabe der weiteren Reagenzien wurde nach 24 h ein sauberer Umsatz zu nur einer Verbindung beobachtet. Ferner konnten allerdings noch geringe Mengen des sekundären Amins **197** und des Aldehyds **88** ausgemacht werden, was erneut bestätigte, dass die reduktive Aminierung am sekundären Amin aufgrund von sterischer Hinderung wesentlich langsamer ablief. In diesem Zusammenhang wurden nach weiteren 24 h erneut Aldehyd **88** (1.0 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) hinzugegeben, um einen Überschuss zu erzeugen und die Reaktion auf diese Weise zu beschleunigen. Die Reaktionsmischung wurde nach 12 h noch einmal mit Natriumtriacetoxyborhydrid (1.0 Äq.) versetzt, was zur Folge hatte, dass nach weiteren 12 h kein Edukt **197** mehr identifiziert werden konnte und schließlich die Reaktion beendet wurde. Das vollständig geschützte verkürzte 6'-N-aminoribosylierte

5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **196** konnte in einer moderaten Ausbeute von 43% erhalten werden. Auch in diesem Fall konnte die Ausbeute mit einer neuen Charge des Natriumtriacetoxyborhydrids und kleineren Anpassungen zu etwas kürzeren Reaktionszeiten noch auf gute 70% verbessert werden (Abb. 4.60).

Als Gründe für das Gelingen der Umkehr der reduktiven Aminierungen sind die möglicherweise geringere sterische Hinderung des sekundären Amins **197** im Vergleich zum sekundären Amin **87** und eine bessere Eignung des entsprechenden Aldehyds **88** für diese zweite reduktive Aminierung anzuführen.

Als nächstes sollte die Verbindung **196** hydrogenolytisch *N*-Cbz-entschützt werden um das primäre Amin **93** zu bilden, das im Folgenden Grundlage für die Peptidkupplung mit dem *tert*-Butylester-Harnstoffdipeptid **85**, das in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellt wurde, sein sollte. Dabei wurden zunächst die alten Bedingungen der Hydrierung mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und dem Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle in Methanol verwendet (vgl. Kapitel 4.8.1.1). In diesem Fall wurde das primäre Amin **93** nach einer Reaktionszeit von 3 h in einer Ausbeute von 88% erhalten. Da derartige Umsetzungen mit den

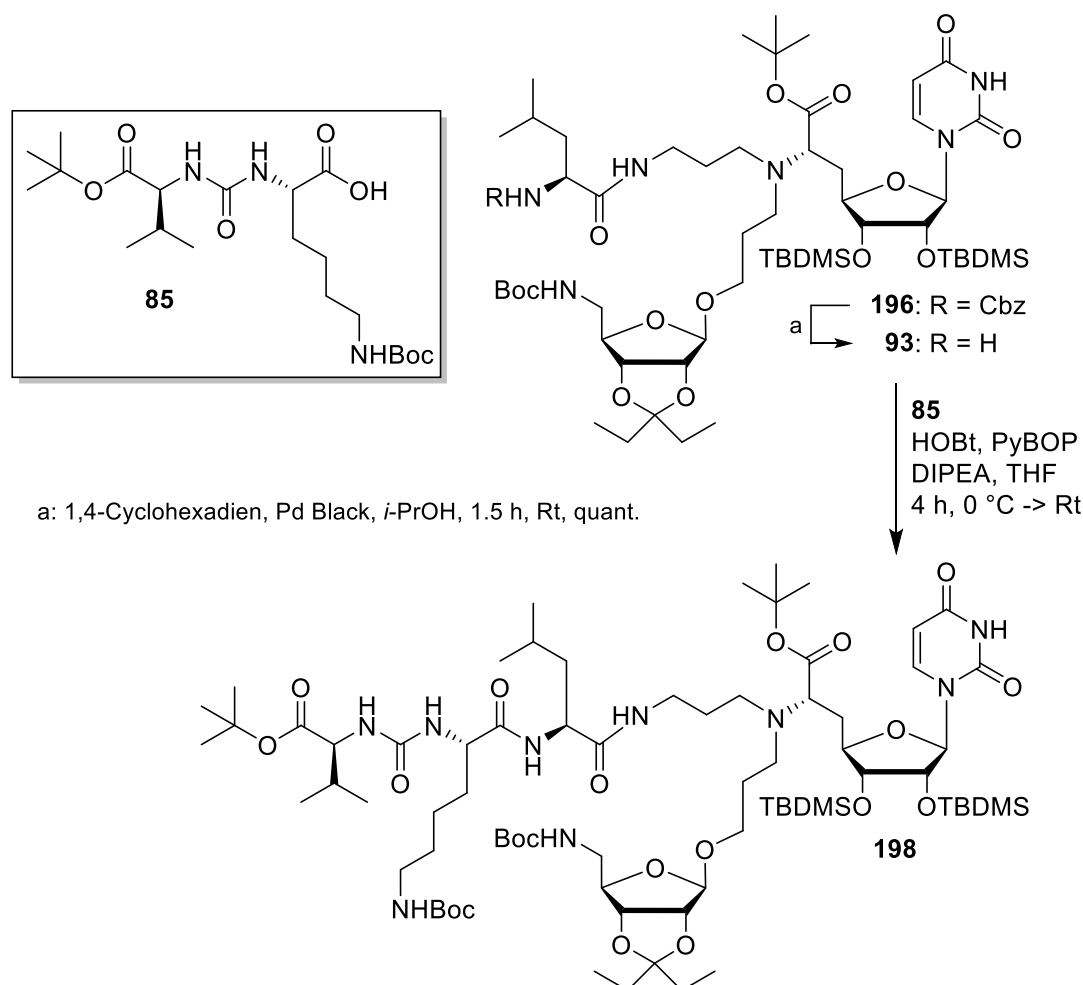


Abb. 4.61 Synthese des vollständig geschützten aminoribosylierten Muraymycin-Vorläufers **198**.

optimierten Bedingungen mit Palladium Black in *iso*-Propanol im Allgemeinen quantitative Ausbeuten lieferten, wurden diese im Zuge der Synthese der Nucleosyl-Aminosäure **43** entwickelten Bedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.1) auch in vorliegender Reaktion angewendet. Auf diese Weise wurde nach 1.5 h das primäre Amin **93** in quantitativer Ausbeute dargestellt (Abb. 4.61).

Die folgende Peptidkupplung dieses primären Amins **93** mit dem *tert*-Butylester-Harnstoffdipeptid **85** erfolgte nach den bereits in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Bedingungen.^[132] Dazu wurde das Harnstoffdipeptid **85** zunächst in Tetrahydrofuran gelöst, unter Zugabe von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und DIPEA innerhalb von 30 min aktiviert und bei 0 °C eine Lösung des zuvor generierten primären Amins **93** in Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur konnte das vollständig geschützte Vorläufermolekül **198** des 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **89** isoliert werden (Abb. 4.61), was anhand massenspektrometrischer Untersuchungen zweifelsfrei belegt werden konnte. Auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung wurde aufgrund der Komplexität der Spektren verzichtet. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine sehr gute Ausbeute von ca. 95% bestimmt. Da eine genaue Ausbeutebestimmung nur anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen möglich gewesen wäre, wurde die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.61 angegeben. Zuletzt sollte dieses vollständig geschützte Analogon **198** zur 6'-*N*-aminoribosylierten Zielverbindung **89** entschützt werden (Abb. 4.62). Dabei war aus Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho bekannt, dass bei den etablierten Standardbedingungen der globalen sauren Entschützungsreaktion mit 80% TFA in Wasser und einer Reaktionszeit von 24 h^[127,132] die glycosidische Bindung gespalten wurde.^[173] Dies überraschte vor dem Hintergrund, dass 5'-aminoribosylierte Muraymycine unter diesen Bedingungen bereits erfolgreich entschützt werden konnten.^[127] Für die hier beobachtete Labilität der Bindung wurde die Verknüpfung der Aminoribose über einen Propyllinker und die damit einhergehende leichtere sterische Zugänglichkeit der Bindung verantwortlich gemacht. Daher sollte die Entschätzung an dieser Stelle optimiert werden, wobei auf bereits in vorliegender Arbeit durchgeführte Studien zu dieser Reaktion zurückgegriffen werden konnte (vgl. Kapitel 4.9.2). Dabei musste jedoch bedacht werden, dass im Unterschied zu den bisher durchgeführten globalen sauren Entschätzungen neben den zwei TBDMS-Ethern, den beiden *tert*-Butylestern und der Boc-

Schutzgruppe nun eine weitere Boc-Gruppe sowie eine acetalische Isopentyliden-Schutzgruppe an der Aminoribose im Molekül vorhanden waren. Zur Entschützung dieser Isopentyliden-Schutzgruppe gab es noch keine Erfahrungswerte. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde ein erster Versuch der Entschützung mit 30% TFA in Wasser unternommen (Tab. 4.9, Eintrag 1). Unter diesen Bedingungen sollte die glycosidische Bindung stabil bleiben und bei längeren Reaktionszeiten auch die schwieriger zu spaltenden *tert*-Butylester entfernt werden. Die Reaktion wurde per LC-MS-Analyse direkt aus der Reaktionsmischung verfolgt, wobei jedoch schon nach 16 h gezeigt werden konnte, dass eine

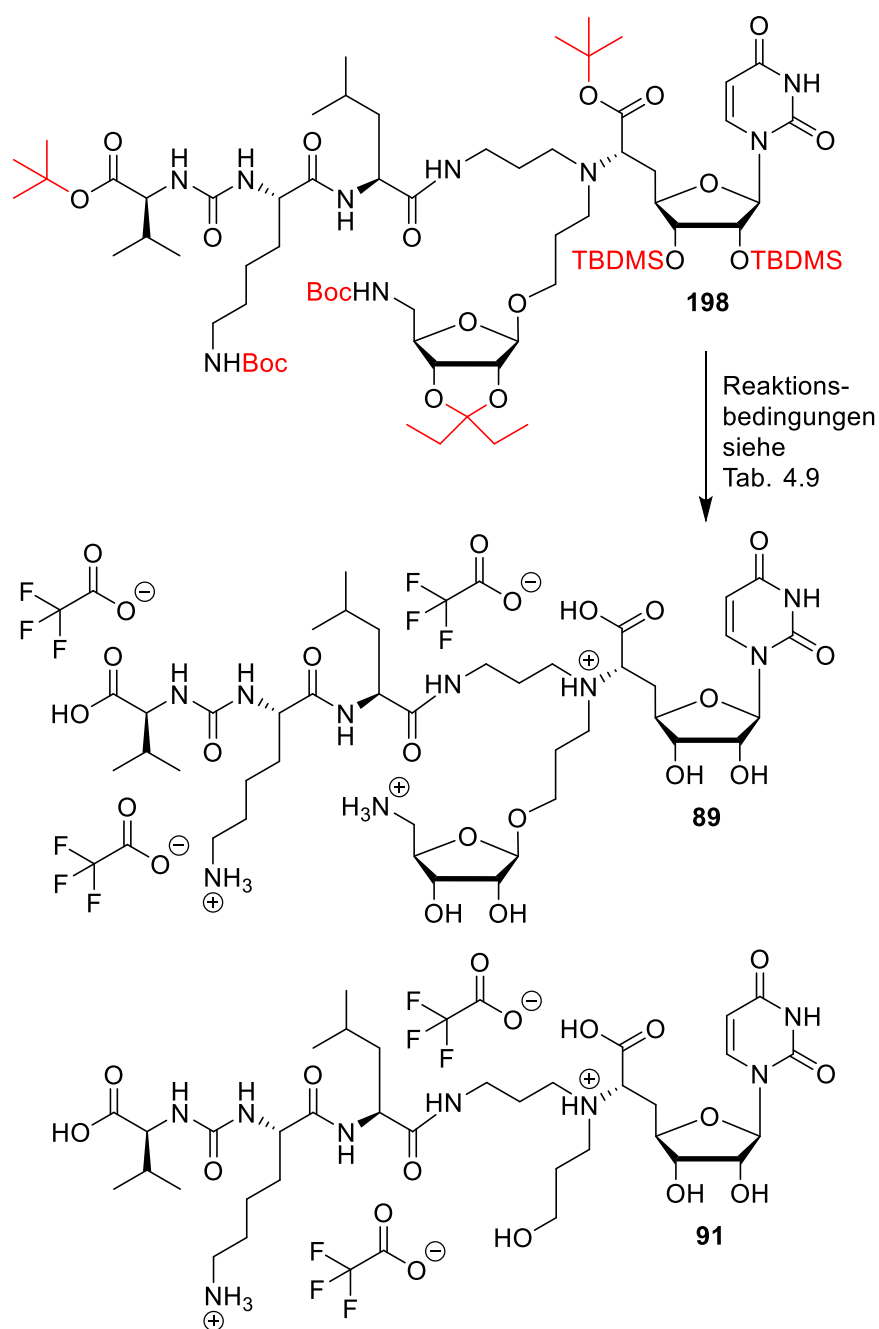


Abb. 4.62 Synthese des 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **89**.

Entschützung auf diese Art aussichtslos erschien. Neben verschiedenen Verbindungen, bei denen die Schutzgruppen in unterschiedlichen Kombinationen schon abgespalten oder noch vorhanden waren, auf die hier aber nicht näher eingegangen wird, lagen eindeutig drei Hauptprodukte vor. Dabei handelte es sich zum einen um eine Verbindung, bei der die Aminoribose-Einheit noch im Molekül verblieben war. Jedoch waren zudem auch noch beide *tert*-Butylester und die Isopentyliden-Schutzgruppe vorhanden. Der Unterschied des zweiten Derivats war lediglich, dass die Isopentyliden-Schutzgruppe zusätzlich abgespalten war, was zeigte, dass derartige Bedingungen der Entschützung für diese acetalische Schutzgruppe ausreichten. Die dritte Hauptverbindung jedoch war ein Derivat, bei dem die glycosidische schon Bindung gespalten, beide *tert*-Butylester aber noch vorhanden waren. Dies war sehr kontraproduktiv für das vorliegende Syntheseproblem, da die *tert*-Butylester somit harschere Bedingungen erforderten, denen die glycosidische Bindung nicht mehr imstande war standzuhalten. Der Vollständigkeit halber wurde die Reaktion noch für 5 d gerührt und analysiert, wobei zu keinem Zeitpunkt das gewünschte Produkt **89** auszumachen war. Das Ergebnis war schließlich ein Produktgemisch aus vollständig entschützter deribosylierter Verbindung **91** und einer analogen Verbindung, bei der noch ein nicht gespaltenen *tert*-Butylester verblieben war. Aus den Entschützungsstudien (vgl. Kapitel 4.9.2) konnte geschlussfolgert werden, dass es sich dabei vermeintlich um den terminalen *tert*-Butylester am Harnstoffdipeptid handelte.

Da die glycosidische Bindung zur Spaltung Wasser benötigt, sollte in einem zweiten Versuch die Wassermenge reduziert werden. Da dies jedoch auch für die acetalische Isopentyliden-Schutzgruppe und die TBDMS-Ether galt, konnte nicht gänzlich auf Wasser verzichtet werden. Daher wurde eine Mischung aus Tetrahydrofuran/TFA/Wasser von 75:20:5 gewählt, die Reaktionsmischung gerührt und die Reaktion erneut mittels LC-MS verfolgt. Da innerhalb der ersten 24 h jedoch keinerlei Umsatz der eingesetzten geschützten Verbindung **198** beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion abgebrochen (Tab. 4.9, Eintrag 2).

Da eine Entschützung somit auf diesem Wege nicht gelang, wurde eine literaturbekannte Methode zur selektiven Abspaltung von *tert*-Butylestern angewendet. In diesem Zusammenhang war bekannt, dass sich *tert*-Butylester in TFA und Dichlormethan mit Triethylsilan als Scavenger, in guten Ausbeuten und kurzen Reaktionszeiten abspalten ließen.^[208] Dieser Strategie folgend wurde der geschützte Vorläufer **198** in einer Mischung aus TFA und Dichlormethan (1:2.5) gelöst und mit Triethylsilan (2.5 Äq.) gerührt. Bereits nach 8 h konnte per LC-MS-Analyse gezeigt werden, dass die Entschützung voranschritt, eine Spaltung der glycosidischen Bindung jedoch nicht stattfand. Nach 22 h konnten zwei

Hauptprodukte mit jeweils gleicher Masse nachgewiesen werden. Es handelte sich um Analoga der Zielverbindung, wobei jeweils einer der beiden TBDMS-Ether nicht gespalten worden war. Da nahezu wasserfrei gearbeitet wurde, war dies nicht verwunderlich. Was jedoch überraschte war die vollständige Entschützung der Isopentyliden-Schutzgruppe. Als nach 28 h keine weitere Änderung mehr eintrat, wurde die Reaktion abgebrochen (Tab. 4.9, Eintrag 3) und versucht die verbliebenen TBDMS-Gruppen mit 60% TFA in Dichlormethan und etwas Wasser (0.1%) zu spalten.

Tab. 4.9 Reaktionsbedingungen der globalen sauren Entschützung zu Verbindung **89**.

Eintrag	Substrat	Bedingungen	Temp.	Zeit	UV-Chromatogramm / LC-MS
1	198	30% TFA in H ₂ O	Rt	5.5 d	Boc und TBDMS schnell abgespalten, Acetale langsamer gespalten, <i>t</i> -Bu sehr langsam bis gar nicht gespalten
2	198	THF/TFA/H ₂ O 75:20:5	Rt	24 h	keine Reaktion
3	198	TFA/CH ₂ Cl ₂ 1:2.5 Et ₃ SiH (2.5 Äq.)	Rt	28 h	89 mit jeweils einer TBDMS-Gruppe verbleibend
4	Eintrag 3	60% TFA in CH ₂ Cl ₂ 10% TFA in H ₂ O	Rt	2 h 45 min	keine Reaktion 89 mit 20% 91
5	198	80% TFA in CH ₂ Cl ₂ 10% TFA in H ₂ O	Rt	48 h 10 min	89 mit 15% 91 (Ausbeuten: 89 : 36%, 91 : 7%, jeweils über 2 Stufen)
6	198	80% TFA in H ₂ O	Rt	24 h	91 (Ausbeute: 35% über 2 Stufen)

Da dies nach 2 h ohne Änderung der Zusammensetzung des Reaktionsgemisches erfolglos blieb, wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produktgemisch in 10% TFA in Wasser gelöst, wobei die Reaktionszeit möglichst kurz gehalten werden sollte, was für die Abspaltung der TBDMS-Ether unter Erhalt der glycosidischen Bindung ausreichend sein sollte. Nach 45 min konnte auf diese Weise das gewünschte aminoribosylierte Muraymycin-Analogon **89** mit ca. 20% des deribosylierten Muraymycin-Analogons **91** als Nebenprodukt erhalten werden (Abb. 4.62), was auf Basis von LC-MS-Analysen ermittelt wurde (Tab. 4.9, Eintrag 4). Eine Reinigung und Trennung der Substanzen erfolgte mittels semipräparativer HPLC.

Diese zweistufige Entschützung wurde darauffolgend noch optimiert, wobei zugunsten kürzerer Reaktionszeiten im ersten Schritt ohne Triethylsilan als Scavenger direkt 80% TFA in Dichlormethan eingesetzt wurde und die Reaktionszeit im zweiten Teil auf 15 min verkürzt werden konnte. Dabei wurde die Bildung des Nebenproduktes **91** auf 15% reduziert. Nach semipräparativer HPLC-Reinigung konnte somit das 6'-*N*-aminoribosylierte 5'-Desoxy-

Muraymycin-Analogon **89** in einer Ausbeute von 36%, das deribosylierte Analogon **91** in 7% Ausbeute (jeweils über 2 Stufen von **93**) erhalten werden (Tab. 4.9, Eintrag 5).

Die deribosylierte Referenzverbindung **91** konnte zwar auf diese Weise schon in sehr geringen Mengen isoliert werden, wurde aber auch noch einmal gezielt dargestellt. Um die Säurelabilität der glycosidischen Bindung wissend, wurde dazu die geschützte Vorläufer-Verbindung **198** nach den bekannten Bedingungen mit 80% TFA in Wasser für 24 h umgesetzt^[127,132] und das deribosylierte Derivat **91** auf diese Weise nach semipräparativer HPLC-Reinigung in einer Ausbeute von 35% über 2 Stufen von **93** erhalten (Tab. 4.9, Eintrag 6). Beide Verbindungen konnten anschließend biologischen Tests unterzogen werden.

4.11.2 Synthese des *N3*-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **90 und des *N3*-verlinkten deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **92****

Neben dem 6'-*N*-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **89** sollte in vorliegender Arbeit auch das *N3*-verlinkte aminoribosylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **90** dargestellt werden. Für biologisch aktive Uracil-*N3*-derivatisierte Muraymycin-Analoga gibt es Präzedenz.^[118] Auch hier sollte das Aminoribose-Motiv über einen Propylrest als Spacer eine konformationelle Flexibilität für die Bindung an das zu inhibierende Enzym *MraY* gewährleisten. Als Referenz sollte zudem die analoge Verbindung **92** dargestellt werden, die sich zur Verbindung **90** nur durch das Fehlen der Aminoribose auszeichnen sollte, wobei der Propyllinker ebenfalls verbleiben und in einem primären Alkohol enden sollte. Beide Verbindungen sollten im Rahmen einer Alkylierungs-Reaktion^[209] synthetisiert werden, wobei ausgehend vom verkürzten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **181** das *N3* der Nucleobase mit dem zuvor dargestellten Tosylat **96** (vgl. Kapitel 4.4.2) alkyliert werden sollte, was bereits in Vorarbeiten einmalig durchgeführt wurde.^[173] Basische Reaktionsbedingungen und die beobachtete Inertheit der Amino-Funktion des Nucleosyl-Aminosäure-Motives in Alkylierungsreaktionen (vgl. Kapitel 4.8.1.3) sollten eine regioselektive Alkylierung der Nucleobase ermöglichen. Daher wurde die Verbindung **181** in Acetonitril als Lösungsmittel mit Kaliumcarbonat (1.1 Äq.) als Base und dem Tosylat **96** (1.0 Äq.) versetzt und zunächst für 2 h bei Raumtemperatur gerührt (Abb. 4.63). Die Verfolgung des Reaktionsverlaufs zeigte jedoch keinerlei Umsatz und somit wurde für 36 h auf 80 °C erhitzt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte das vollständig geschützte *N3*-alkylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **199** in

einer guten Ausbeute von 64% erhalten werden, die in weiteren Versuchen und Verkürzung der Reaktionszeit auf 24 h sogar noch auf sehr gute 70% (80% brsm) gesteigert werden konnte. Dabei wurde die Reaktion beendet, bevor ein vollständiger Umsatz des Substrates **181** beobachtet werden konnte, da auch die Bildung eines Nebenproduktes nachgewiesen wurde. Dabei handelte es sich wahrscheinlich um ein mehrfach alkyliertes Derivat. Die Menge an isolierter Substanz dieses Nebenproduktes reichte jedoch nicht für eine vollständige Charakterisierung aus, weshalb hier keine konkreten Angaben über die Struktur gemacht werden können.

Die Alkylierung des *N*3 der Nucleobase konnte eindeutig im ^1H - ^{13}C -HMBC Korrelationsspektrum durch $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungen zwischen *C*-2 und *C*-4 und der *N*3-CH₂-Gruppe in Nachbarschaft zum *N*3 der Nucleobase belegt werden.

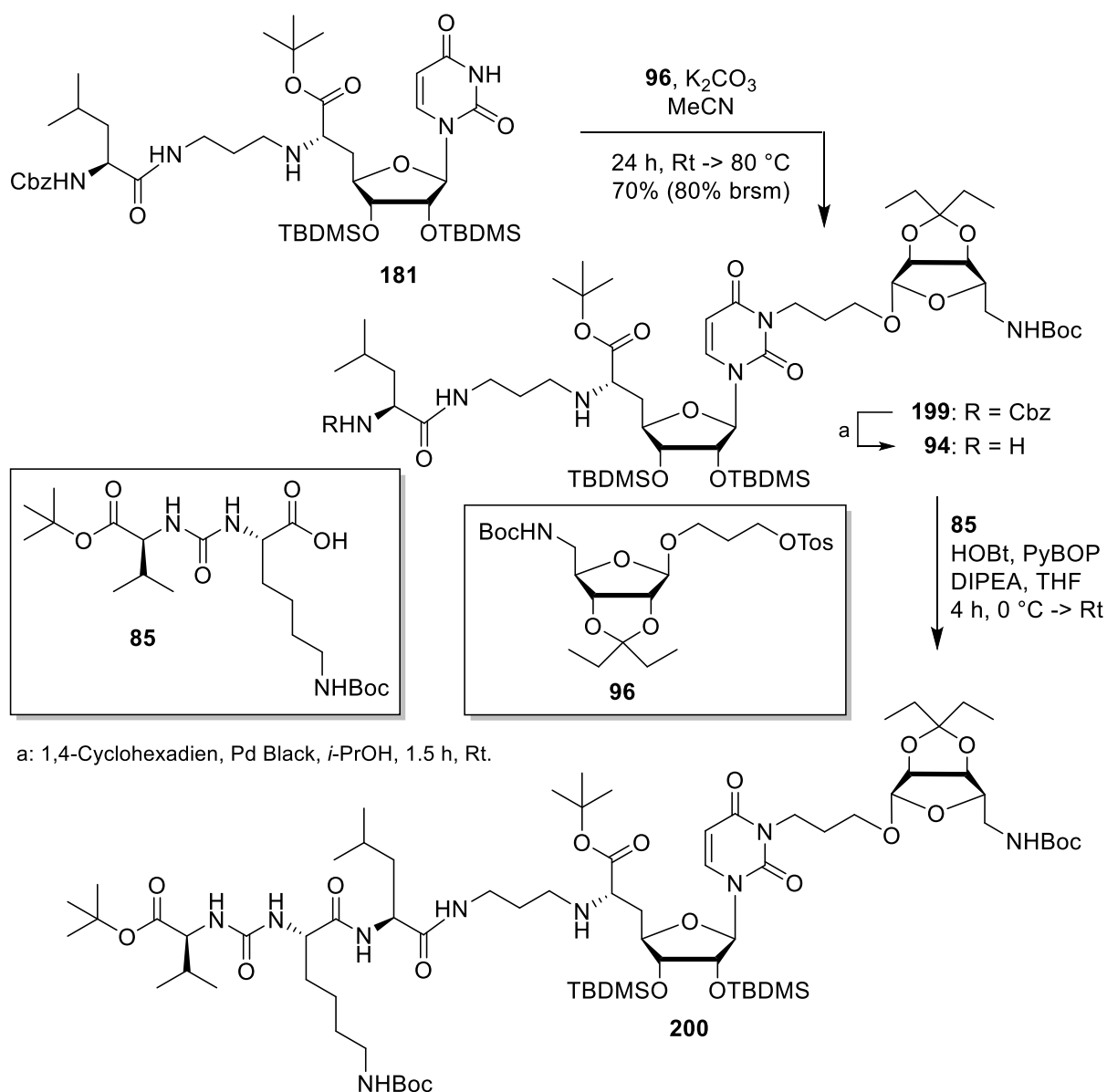


Abb. 4.63 Synthese des vollständig geschützten aminoribosylierten Muraymycin-Vorläufers **200**.

Die folgende *N*-Cbz-Entschützung der Verbindung **199** sollte anschließend hydrogenolytisch erfolgen um das primäre Amin **94** zu bilden, das im Folgenden Grundlage für die Peptidkupplung mit dem *tert*-Butylester-Harnstoffdipeptid **85** sein sollte. Wie in der Synthese des 6'-*N*-verlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **89** wurden erneut zunächst die Bedingungen der Hydrierung mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und dem Katalysator 10% Palladium auf Aktivkohle in Methanol verwendet (vgl. Kapitel 4.8.1.1). In diesem Fall wurde das primäre Amin **94** nach einer Reaktionszeit von 3 h erhalten. Auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung wurde aufgrund von Rotamerenbildung verzichtet. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine moderate Ausbeute von ca. 70% bestimmt. Da eine genaue Ausbeutebestimmung nur anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen möglich gewesen wäre, wurde die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.63 angegeben.

Wie erwähnt, gaben derartige Umsetzungen mit Palladium Black in *iso*-Propanol im Allgemeinen quantitative Ausbeuten und so wurden auch in vorliegendem Fall die im Zuge der Synthese der Nucleosyl-Aminosäure **43** entwickelten Bedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.1) angewendet. Auf diese Weise konnte nach 1 h das primäre Amin **94** bei Annahme einer hinreichenden Reinheit in sehr guter Ausbeute von ca. 95% isoliert werden.

In der folgenden Peptidkupplung nach den etablierten Bedingungen^[132] wurde das Harnstoffdipeptid **85** mit dem zuvor generierten primären Amin **94** umgesetzt und das vollständig geschützte Vorläufermolekül **200** des *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **90** isoliert (Abb. 4.63), was anhand massenspektrometrischer Untersuchungen zweifelsfrei belegt werden konnte. Auch hier wurde auf eine tiefergehende NMR-spektroskopische Charakterisierung aufgrund der Komplexität der Spektren verzichtet. Erneut basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen, eine sehr gute Ausbeute von ca. 85% bestimmt und die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.63 angegeben.

Zuletzt sollte dieses vollständig geschützte Analogon **200** zur *N*3-verlinkten aminoribosylierten Zielverbindung **200** entschützt werden (Abb. 4.64). Die Labilität der glycosidischen Bindung aufgrund der Verknüpfung der Aminoribose über einen Propyllinker und die damit einhergehende leichtere sterische Zugänglichkeit wurde bereits erwähnt (vgl. Kapitel 4.11.1).^[173] Die etablierten Standardbedingungen der globalen sauren Entschützung mit 80% TFA in Wasser und 24 h^[127,132] waren somit nicht nutzbar,

weshalb diese hier optimiert werden sollten. Dabei konnte auf bereits durchgeführte Studien zu dieser Reaktion zurückgegriffen werden (vgl. Kapitel 4.9.2). Wie bei der Synthese des 6'-*N*-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **89** wurde basierend auf diesen Ergebnissen ein erster Versuch zur Entschützung der Verbindung **200** mit 30% TFA in Wasser unternommen (Tab. 4.10, Eintrag 1). Unter diesen Bedingungen sollte die glycosidische Bindung stabil bleiben und bei längeren Reaktionszeiten auch die schwieriger zu spaltenden *tert*-Butylester entfernt werden. Die Reaktion wurde per LC-MS-Analyse direkt aus der Reaktionsmischung verfolgt, wobei sich hier jedoch noch schneller zeigte, dass eine Entschützung auf diese Art aussichtslos erschien. Nach 16 h lag hier bereits ein Hauptprodukt

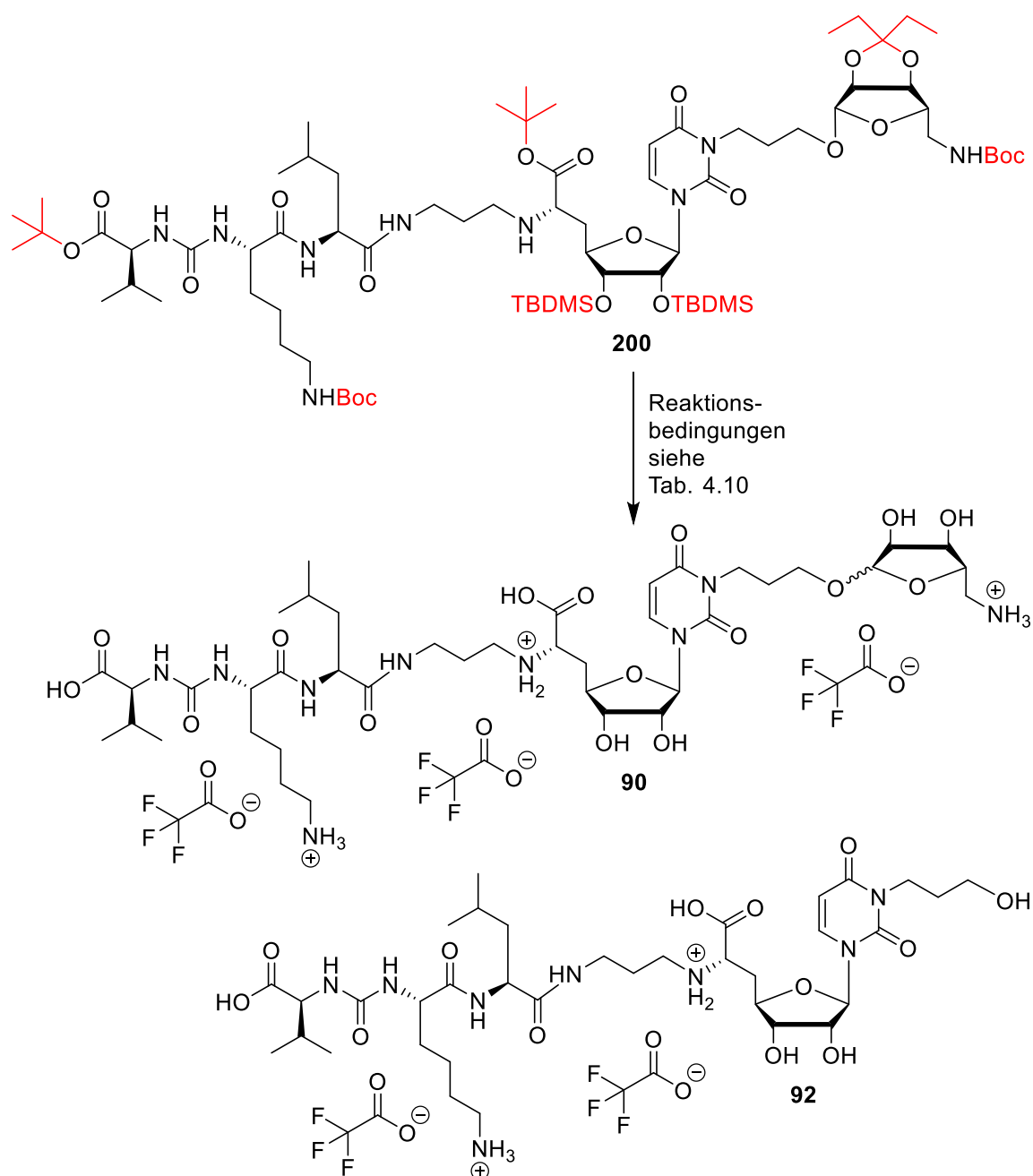


Abb. 4.64 Synthese des *N*3-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **90**.

vor, bei dem schon die glycosidische Bindung gespalten, beide *tert*-Butylester aber noch intakt waren. Dass eine Spaltung der glycosidischen Bindung im Vergleich zum 6'-*N*-aminoribosylierten Analogon **198** wesentlich schneller erfolgte, wurde der noch besseren sterischen Zugänglichkeit der an der Nucleobase deutlich exponierteren Aminoribose zugeschrieben. Der Vollständigkeit halber wurde auch hier die Reaktion noch für 5 d gerührt und analysiert, wobei zu keinem Zeitpunkt das gewünschte Produkt **90** detektiert wurde. Das Ergebnis war schließlich auch hier ein Produktgemisch aus vollständig entschützter deribosylierter Verbindung **92** und einer analogen Verbindung, bei der noch ein nicht gespaltenen *tert*-Butylester vorhanden war. Wiederum wurde geschlussfolgert, dass es sich dabei vermutlich um denjenigen *tert*-Butylester handelte, mit dem die Peptidkette des Muraymycins abschloss (vgl. Kapitel 4.9.2). Da die glycosidische Bindung zur Spaltung Wasser benötigt, sollte in einem zweiten Versuch die Wassermenge reduziert werden. Da dies jedoch auch für die acetalische Isopentyliden-Schutzgruppe und die TBDMS-Ether gilt, konnte nicht gänzlich auf Wasser verzichtet werden. Daher wurde auf gleiche Weise wie beim 6'-*N*-Analogon **89** eine Mischung aus Tetrahydrofuran/TFA/Wasser von 75:20:5 gewählt und die Reaktion erneut mittels LC-MS verfolgt. Da innerhalb der ersten 24 h jedoch keinerlei Umsatz beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion abgebrochen (Tab. 4.10, Eintrag 2).

Tab. 4.10 Reaktionsbedingungen der globalen sauren Entschützung zu Verbindung **90**.

Eintrag	Substrat	Bedingungen	Temp.	Zeit	UV Chromatogramm / LC-MS
1	200	30% TFA in H ₂ O	Rt	5.5 d	Boc, TBDMS und Acetale schnell gespalten <i>t</i> -Bu sehr langsam bis gar nicht gespalten
2	200	THF/TFA/H ₂ O 75:20:5	Rt	24 h	keine Reaktion
3	200	TFA/CH ₂ Cl ₂ 1:2.5 Et ₃ SiH (2.5 Äq.)	Rt	24 h	90 mit jeweils einer TBDMS-Gruppe verbleibend
4	Eintrag 3	60% TFA in CH ₂ Cl ₂ 10% TFA in H ₂ O	Rt	2 h 1 h	keine Reaktion 90 / 92 40:60
5	200	80% TFA in CH ₂ Cl ₂ 10% TFA in H ₂ O	Rt	30 h 10 min	90 / 92 50:50 (Ausbeuten: 90 : 31%, 92 : 34%, jeweils über 3 Stufen)

Die gleiche zuvor in der Synthese des Analogons **89** genutzte literaturbekannte Methode zur selektiven Abspaltung von *tert*-Butylestern wurde nun auch in diesem Zuge verwendet.^[208] Dieser Strategie folgend wurde der geschützte Vorläufer **200** in einer Mischung aus TFA und Dichlormethan (1:2.5) gelöst und mit Triethylsilan (2.5 Äq.) gerührt. Bereits nach 1.5 h konnte per LC-MS-Analyse gezeigt werden, dass die Entschützung schnell voranschritt, eine Spaltung der glycosidischen Bindung jedoch nicht stattfand. Nach 8 h konnten zwei

Hauptprodukte mit jeweils gleicher Masse nachgewiesen werden. Es handelte sich um Analoga der Zielverbindung, mit dem Unterschied, dass jeweils einer der beiden TBDMS-Ether nicht gespalten worden war. Dies war erneut nicht verwunderlich, da nahezu wasserfrei gearbeitet wurde. Was jedoch überraschte war die vollständige Entschützung der Isopentyliden-Schutzgruppe. Als nach 24 h keine weitere Änderung mehr eintrat, wurde die Reaktion abgebrochen (Tab. 4.10, Eintrag 3) und versucht die übrig gebliebenen TBDMS-Gruppen mit 60% TFA in Dichlormethan und etwas Wasser (0.1%) zu spalten. Da dies nach 2 h erfolglos blieb, wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produktgemisch in 10% TFA in Wasser gelöst, wobei die Reaktionszeit besonders kurz gehalten werden sollte, was für die Abspaltung der TBDMS-Ether unter Erhalt der glycosidischen Bindung genügen sollte. Nach 1 h konnte auf diese Weise ein Gemisch aus der gewünschten aminoribosylierten Verbindung **90** und dem deribosylierten Muraymycin-Analagon **92** im Verhältnis von 40:60 erhalten werden, was auf Basis von LC-MS-Analysen ermittelt wurde (Tab. 4.10, Eintrag 4). Die Verbindungen konnten mittels semipräparativer HPLC gereinigt und voneinander getrennt werden. Dass der Anteil der deribosylierten Verbindung **92** in diesem Fall deutlich größer war als der Anteil der deribosylierten Verbindung **91** in der Synthese des 6'-*N*-aminoribosylierten Analogons **89** (vgl. Kapitel 4.11.1) belegt die eingangs postulierte bessere sterische Zugänglichkeit der Aminoribose aufgrund höherer Exponiertheit an der Nucleobase. Diese zweistufige Entschützung wurde darauffolgend noch einmal angepasst, wobei im ersten Schritt ohne Triethylsilan als Scavenger direkt 80% TFA in Dichlormethan eingesetzt wurde und die Reaktionszeit im zweiten Teil auf 10 min verkürzt werden konnte. Dabei wurde die Bildung der deribosylierten Verbindung **92** auf ca. 50% reduziert und somit nach semipräparativer HPLC-Reinigung das 6'-*N*-verlinkte aminoribosylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analagon **90** in einer Ausbeute von 26% und das deribosylierte Analogon **92** in 27% Ausbeute (jeweils über drei Stufen von **199**) erhalten (Tab. 4.10, Eintrag 5).

Da beide Verbindungen in genügender Menge isoliert wurden, wurde die deribosylierte Verbindung **92** nicht noch einmal gezielt dargestellt.

In ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Untersuchungen konnte im Folgenden gezeigt werden, dass es sich bei der isolierten Zielverbindung mit einer Aminoribose in vermuteter β -Konfiguration tatsächlich um ein α/β -Anomerengemisch **90** (49:51) handelte (Abb. 4.64). Eine solche Anomerisierung konnte nur im letzten sauren Entschützungsschritt eingetreten sein. Erklärt wurde dies erneut durch die starke Exponiertheit der über die Nucleobase verlinkten Aminoribose in Verbindung mit den sauren Entschützungsbedingungen. Es musste also eine Abspaltung des Zuckers gefolgt von einer schnellen Reribosylierung unter Bildung

eines α/β Anomerengleichgewichtes stattgefunden haben. Für sich anschließende biologische Testungen des α/β -Anomerengemisches **90** und der deribosylierten Referenzverbindung **92**, spielte dies jedoch keine wesentliche Rolle.

4.11.3 Biologische Evaluierung der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga und ihrer deribosylierten Referenzverbindungen

Die biologische Evaluierung wurde in der Arbeitsgruppe Ducho von S. Koppermann und J. Ludwig durchgeführt. Es wurden die inhibitorischen *in vitro*-Aktivitäten gegenüber einer Membranpräparation von *MraY* aus *S. aureus* in einem Fluoreszenz-basierten Assay^[68,69] bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.65 aufgeführt.

Dabei zeigte sich, dass die an der Nucleobase modifizierten Verbindungen **90** und **92** nur eine sehr geringe Aktivität aufwiesen (IC_{50} (**90** und **92**) > 0.1 mM, *MraY* aus *S. aureus*) (Abb. 4.65). Vor diesem Hintergrund konnte vernachlässigt werden, dass **90** als α/β -Anomerengemisch vorlag. Trotz Literaturpräzedenz für an der Nucleobase modifizierte Muraymycine^[118] stehen die gemessenen Werte im Einklang mit der 2016 von Lee und Mitarbeitern publizierten Cokristall-Struktur von *MraY* aus *Aquifex aeolicus* mit dem Inhibitor Muraymycin D2 **22**,^[105] da die Struktur des aktiven Zentrums eine sehr spezifische Uracil-Bindetasche aufweist. Die Beobachtungen zu den 6'-*N*-modifizierten Verbindungen **89** und **91** waren aufschlussreich (Abb. 4.65). So ging eine Aminoribosylierung an dieser Stelle mit einem fast vollständigen Verlust der Aktivität (IC_{50} (**89**) > 0.1 mM, *MraY* aus *S. aureus*) im Vergleich zur nicht-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Referenzverbindung einher (IC_{50} (**76**) = $2.5 \pm 0.6 \mu\text{M}$, *MraY* aus *S. aureus*). Trotz der Tatsache, dass an anderen Positionen von synthetisch dargestellten Muraymycin-Analoga verschiedene Modifikationen von *MraY* toleriert werden,^[171,210] lag der Befund nahe, dass dies an der 6'-*N*-Position offensichtlich für große Reste nicht der Fall war. Kleinere Modifikationen wie in der desaminoribosylierten Verbindung **91** schienen bei leicht verminderter Aktivität jedoch toleriert zu werden (IC_{50} (**91**) = $17 \pm 9 \mu\text{M}$, *MraY* aus *S. aureus*) (Abb. 4.65). Vor diesem Hintergrund wären weitere Analoga mit kleineren Modifikationen an der 6'-*N*-Position interessant (vgl. Kapitel 6).

Bezüglich des erarbeiteten Konzepts der Einführung des Aminoribose-Motives über einen Propylrest als Spacer konnte gezeigt werden, dass keine Möglichkeit zur alternativen Positionierung der Aminoribose über flexible Linker gegeben ist und diese offensichtlich an der nativen 5'-Position den größten Beitrag zu einer guten inhibitorischen Aktivität leisten

kann.^[65,110] Dies galt sowohl für die 6'-N-Position und mehr noch für die N3-Position an der Nucleobase, die keine Modifikationen zu tolerieren scheint.

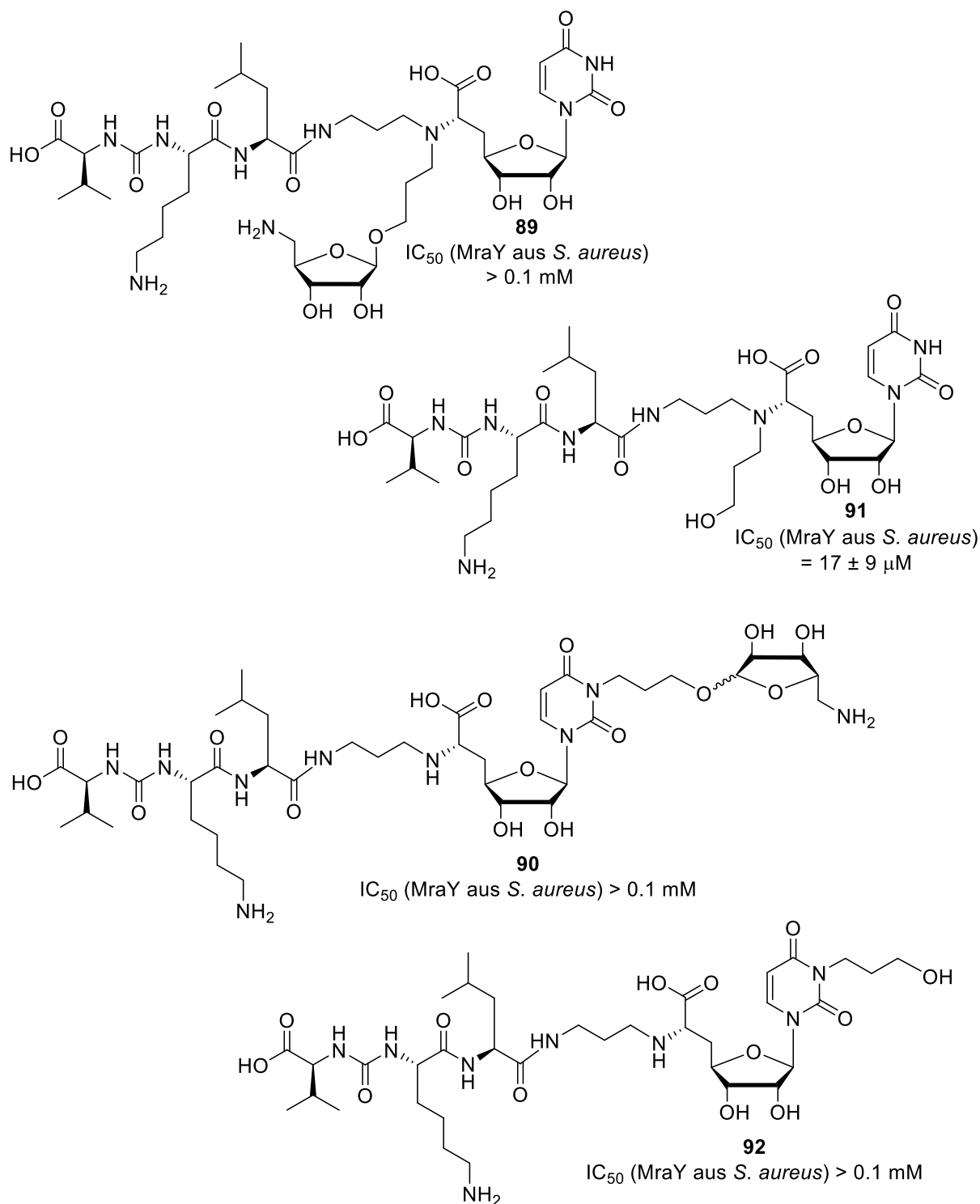


Abb. 4.65 Biologische Evaluierung der propylverlinkten Muraymycin-Analoga.

4.12 Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **97**

Im Folgenden sollte erstmals in der Arbeitsgruppe Ducho ein an der 5'-Position aminoribosyliertes Muraymycin-Analogon **97** aufgebaut werden, das somit die naturstoffanaloge (5'S,6'S)-Konfiguration widerspiegeln und dem natürlich vorkommenden Muraymycin D2 **22** am Nächsten kommen sollte. Dabei sollte der einzige Unterschied in der Peptidkette liegen, da aufgrund der synthetischen Zugänglichkeit L-Lysin leichter als L-Epicapreomycinidin eingebaut werden kann. Mithilfe der anschließenden biologischen Evaluierung dieser Verbindung wurden weitergehende Einblicke in die *in vitro*-Aktivität gegen *MraY* und die antibakterielle Aktivität von Muraymycin-Antibiotika erwartet.

4.12.1 Entwicklung einer Glycosylierungsreaktion für die 5'-Position TBDMS-Ether- und *tert*-Butylester-geschützter Nucleosyl-Aminosäuren

Für die Glycosylierung von (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren zu naturstoffanalogen 5'-aminoribosylierten Muraymycinen sollte eine neue Strategie anhand von Modellverbindungen entwickelt werden. Zuvor wurde in der Arbeitsgruppe Ducho bereits die von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern entwickelte und etablierte Glycosylierungsmethode angewendet.^[124] Mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (BF₃·Et₂O) als stark Lewis-saurem Aktivator führte diese Methode bereits für die Synthese von Glycosiden mit unfunktionalisierten primären Alkoholen zum Erfolg (vgl. Kapitel 4.4.1 und Kapitel 4.5.4). Postuliert wurde dabei, dass die Reaktion überwiegend S_N1-artig über ein Carbokation am anomeren Zentrum des Zuckers verläuft und die beobachtete gute β -Selektivität der Reaktion somit der sterischen Abschirmung der Isopentyliden-Schutzgruppe zuzuschreiben war. Für das vorliegende Problem basierend auf dem in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Schutzgruppenmuster mit TBDMS- und *tert*-Butylester-Schutzgruppen erwies sich diese Methode jedoch als zu harsch und damit ungeeignet. Eine neue Glycosylierungsstrategie sollte einerseits mild genug sein, um sich mit sauer spaltbaren Schutzgruppen in Glycosyl-Donor und Glycosyl-Akzeptor kombinieren zu lassen. Andererseits musste eine neue Strategie auf die Eignung im Zusammenwirken mit dem sterischen Anspruch des sekundären Alkohols der Nucleosyl-Aminosäure als Glycosyl-Akzeptor überprüft werden. Anhand von Modellverbindungen sollte daher zunächst versucht werden diese Glycosylierung zu etablieren. Dabei sollte ein synthetisch sehr einfach

zugängliches *tert*-Butylester-geschütztes Threonin-Derivat **101** die (5'*S*,6'*S*)-Konfiguration des Nucleosyl-Aminosäure-Motives ohne Uridin-Gerüststruktur nachahmen. Da eine (5'*S*,6'*R*)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **171** mit Uridin-Grundgerüst ebenfalls relativ einfach synthetisch darzustellen war und sich im Vergleich zum Naturstoff sehr ähnlich verhalten sollte, wurde diese als zweite Modellverbindung gewählt.

Um sich für Glycosylierungsstudien zu eignen musste die (5'*S*,6'*R*)-Nucleosyl-Aminosäure zunächst *N*-Cbz-geschützt werden, was in Verbindung **100** resultieren sollte. Dafür wurden zunächst Benzyloxycarbonylchlorid und Natriumhydrogencarbonat als Base in

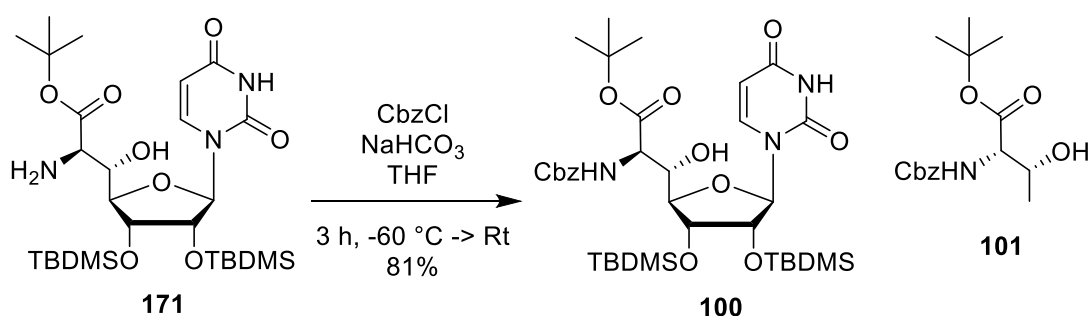


Abb. 4.66 Synthese der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100**; Modellverbindungen **100** und **101** für Glycosylierungsstudien.

Tetrahydrofuran vorgelegt und bei einer Temperatur von -60 °C mit einer Lösung von Nucleosyl-Aminosäure **171** in Tetrahydrofuran umgesetzt.^[174] Innerhalb von 3 h wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt und die *N*-Cbz-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **100** in einer Ausbeute von 81% erhalten (Abb. 4.66).

4.12.1.1 Glycosylierung mit aktivierten Glycosylbromid-Donoren

2004 berichteten Gravier-Pelletier, Ginisty und Le Merrer eine Ribosylierung mittels aktivierter Glycosylbromid-Donoren (vgl. Kapitel 2.7).^[161] An dieser Methode sollte sich im Folgenden zunächst orientiert werden (Abb. 4.67). Dabei wurde als einfachster Alkohol zunächst Methanol glycosyliert. Um das reaktive Bromid **201** aus dem zuvor synthetisierten acetylierten D-Ribose-Derivat **136** (0.77 Äq.) (vgl. Kapitel 4.5.1) zu erhalten, wurde dieses bei einer Temperatur von -40 °C in Dichlormethan mit Trimethylsilylbromid (TMS-Br) (1 x 4.0 Äq., 2 x 8.0 Äq.) aktiviert, wobei jeweils nach der Zugabe auf Raumtemperatur erwärmt und für ca. 2 h gerührt wurde. Mit jeder Aktivierung konnte ein signifikanter Anstieg der Bildung von **201** mittels dünnschichtchromatographischer Untersuchungen beobachtet werden, wobei allerdings auch ein ansteigendes Auftreten von Neben- bzw. Zersetzungsprodukten bemerkt wurde. Der zu glycosylierende Methanol wurde zu einer

Lösung aus Silbertrifluormethansulfonat (1.23 Äq.) in abs. Dichlormethan unter Zusatz von Molekularsieb (4 Å) bei einer Temperatur von -20 °C gegeben und 1 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf -10 °C erwärmt, das Bromid **201** in Dichlormethan gelöst tropfenweise zugegeben und für 14 h bei dieser Temperatur weitergerührt. Das Produkt **202** konnte nach einer säulenchromatographischen Reinigung als reines β -Anomer mit einer Ausbeute von 27% isoliert werden, außerdem wurde nicht aktivierte D-Ribose **136** zurückgewonnen, wodurch sich die Ausbeute auf moderate 37% (brsm) steigerte (Tab. 4.11, Eintrag 1).

Um in einem weiteren Versuch eine vollständige Aktivierung zu erreichen, wurde unter analogen Reaktionsbedingungen gearbeitet, wobei allerdings der Glycosyl-Donor **136** (1.25 Äq.) im Überschuss eingesetzt wurde. Außerdem wurde nach anschließender Zugabe des getrockneten Bromids **201** in Dichlormethan nun über einen Zeitraum von 14 h von -10 °C auf Raumtemperatur erwärmt. Unter diesen Reaktionsbedingungen wurde das Produkt wieder als reines β -Anomer in einer Ausbeute von 39% erhalten (Tab. 4.11, Eintrag 2), eine Rückgewinnung des Eduktes war nicht möglich. Dass auch in dieser zweiten Variante kein signifikanter Anstieg der Ausbeute erzielt werden konnte, legte den Schluss nahe, dass die Aktivierung des zugrunde liegenden säurelabilen Glycosyl-Donors **136** und die anschließende postulierte S_N1 -artige Umsetzung über ein Carbokation am anomeren Zentrum des Zuckers mit dieser Methode nicht trivial zu sein schien. Da die Glycosylierung von Methanol nur bedingt Einblicke in die Natur des zugrundeliegenden Glycosylierungsproblems erlaubte, wurde dies in späteren Glycosylierungsstudien nicht weiter verfolgt.

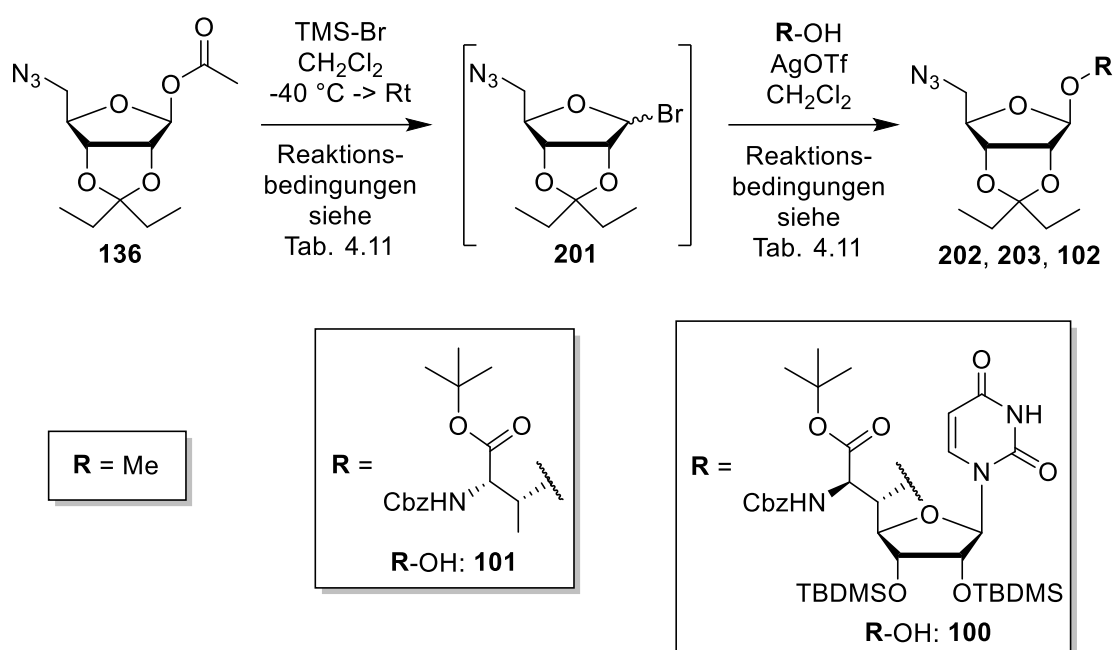


Abb. 4.67 Glycosylierungsversuche mit aktivierten Glycosylbromid-Donoren.

Die anschließende Glycosylierung der Theronin-abgeleiteten Modells substanz **101** wurde zunächst erneut unter literaturbekannten Reaktionsbedingungen durchgeführt.^[161] Die zu glycosylierende Modells substanz **101** wurde zu einer Lösung aus Silbertrifluormethansulfonat (1.23 Äq.) in Dichlormethan unter Zusatz von Molekularsieb (4 Å) bei einer Temperatur von -20 °C gegeben und 1 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf -10 °C erwärmt, das bereits zuvor auf gleiche Weise aktivierte, getrocknete Bromid in Dichlormethan tropfenweise zugegeben und für 14 h bei dieser Temperatur weitergerührt. Die Zielverbindung konnte jedoch nur als Gemisch mit dem noch nicht aktivierten Glycosyl-Donor **136** erhalten werden (berechnete Ausbeute 14%, **203/136** 1.0:2.5) (Tab. 4.11, Eintrag 3). Dies überraschte, da bei der Verfolgung der Aktivierungsreaktion zum Bromid **201** ein vollständiger Umsatz gezeigt werden konnte. Es musste somit im Verlauf der Reaktion zu einer Rückbildung des Esters **136** gekommen sein.

Tab. 4.11 Reaktionsbedingungen der Glycosylierungsversuche mit Glycosylbromid-Donoren.

Eintrag	Akzeptor	Äq. Donor bzgl. Akzeptor	Äq. TMS-Br bzgl. Donor	Aktivierung	Temperatur Glycosylierung	Ausbeute
1	MeOH	0.77	1 x 4.0 2 x 8.0	3 x 2 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C	202 : 27% (37% brsm)
2	MeOH	1.25	1 x 4.0 2 x 8.0	3 x 2 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C -> Rt	202 39%
3	101	0.77	1 x 4.0 2 x 8.0	3 x 2 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C	203/136 1.0:2.5 14% berechnet
4	101	1.25	1 x 4.0 3 x 8.0	4 x 2 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C -> Rt	203/136 1.0:1.2 23% berechnet
5	101	1.25	1 x 4.0 4 x 8.0	3 x 2 h, 12 h, 2 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C -> Rt	203 : 14%
6	101	1.25	5 x 8.0	5 x 1 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C -> Rt	203/136 1.0:3.0 12% berechnet
7	100	4.17	1 x 4.0 3 x 8.0	4 x 2 h	1 h -20 °C, 14 h -10 °C -> Rt	102 : 13%

Aus diesem Grund wurde in einem weiteren Versuch der Glycosylierung ein vierter Aktivierungsschritt eingebaut und das D-Ribose-Derivat **136** (1.25 Äq.) in einem leichten Überschuss bezogen auf die Modells substanz **101** eingesetzt. Außerdem wurde in der nachfolgenden Glycosylierung das Reaktionsgemisch nach der Zugabe des Bromids **201** über Nacht von -10 °C auf Raumtemperatur erwärmt, um einen höheren Umsatz zu gewährleisten. Diese Vorgehensweise resultierte erneut in einem Gemisch (berechnete Ausbeute 23%, Produkt:Donor **203/136** 1.0:1.2) (Tab. 4.11, Eintrag 4). Auf diese Weise konnte jedoch

gezeigt werden, dass der Anteil an nicht aktiviertem Glycosyl-Donor **136** unter diesen Reaktionsbedingungen verringert werden konnte.

Im Folgenden wurde in einem weiteren Versuch die Aktivierungszeit des Glycosyl-Donors **136** verlängert. Hierbei wurde zunächst wieder wie in den vorherigen Versuchen viermal mit TMS-Br (1 x 4.0 Äq., 3 x 8.0 Äq.) aktiviert. Allerdings wurde die Reaktionslösung nach der vierten Aktivierung für 12 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss daran wieder bei einer Temperatur von -40 °C mit TMS-Br (8.0 Äq.) versetzt. Die anschließende Vorgehensweise blieb identisch zu der vorhergehenden Reaktion. Erstmals konnte auf diese Weise das Produkt als Reinsubstanz isoliert werden, jedoch war die Ausbeute mit nur 14% wenig zufriedenstellend (Tab. 4.11, Eintrag 5). Als eine mögliche Ursache hierfür wurde eine Zersetzung des Zucker-Donors **136** bei der Aktivierung über die lange Reaktionszeit angenommen, da die eingesetzte Aminoribose relativ instabil im leicht sauren Milieu war. Daher sollte in einem letzten Versuch der Glycosyl-Donor **136** in möglichst kurzer Zeit, jedoch mit einer großen Menge an TMS-Br, aktiviert werden. In diesem Fall wurde die Aktivierungszeit von 2 h auf jeweils 1 h verkürzt und so das Ribose-Derivat **136** über insgesamt 5 h aktiviert (5 x 8.0 Äq.). Hierbei konnte erneut nur ein Gemisch der Zielverbindung mit dem noch nicht aktivierten Glycosyl-Donor **136** (berechnete Ausbeute 12% brsm, **203/136** 1.0:3.0) erhalten werden (Tab. 4.11, Eintrag 6). Außerdem konnte auch eine große Menge reinen Eduktes **136** (28%) reisoliert und die eingesetzte Modellschubstanz **101** (43%) zurückgewonnen werden.

Aufgrund des äußerst schlechten Umsatzes schien diese Methode wenig geeignet für die angestrebte Synthese zu sein. Dieser könnte einerseits durch eine schlechte Zugänglichkeit der Hydroxy-Gruppe in der Modellschubstanz **101** bedingt werden. Andererseits könnte auch die schlechte Aktivierung des Glycosyl-Donors **136** beziehungsweise dessen Rückbildung nach der Aktivierung und Zersetzung bei langer Aktivierungszeit eine Rolle spielen. Dennoch sollte in einem abschließenden Versuch die Glycosylierung der sterisch noch weitaus stärker gehinderten *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **100** der Vollständigkeit halber durchgeführt werden. Die zu glycosylierende *N*-Cbz-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **100** wurde in starkem Unterschuss zu einer Lösung aus Silbertrifluormethansulfonat (4.17 Äq.) in Dichlormethan unter Zusatz von Molekularsieb (4 Å) bei einer Temperatur von -20 °C gegeben und 1 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf -10 °C erwärmt, das zuvor aktivierte, getrocknete Bromid **201** in abs. Dichlormethan tropfenweise zugegeben und innerhalb von 14 h auf Raumtemperatur erwärmt. Trotz einer starken sterischen Abschirmung der zu glycosylierenden sekundären Hydroxy-Funktion konnte mit dieser Reaktionsführung

ein Umsatz zum gewünschten Produkt **102** beobachtet werden (Tab. 4.11, Eintrag 7). In diesem Fall war aufgrund der veränderten Polarität der Zielverbindung eine bessere Trennbarkeit von den Nebenprodukten möglich. Für **102** konnte zwar nur eine geringe Ausbeute von 13% erreicht werden, jedoch war dies vor dem Hintergrund der zuvor erlangten Erkenntnisse nicht verwunderlich und bestätigte die Annahme, dass die verwendete Glycosylierungsmethode nicht für das vorliegende Syntheseproblem geeignet war.

4.12.1.2 Glycosylierung mit Trichloracetimidaten

Weiterhin ist in der Literatur eine Glycosylierungsmethode nach R. R. Schmidt bekannt, die Trichloracetimide als Glycosyl-Donoren verwendet (vgl. Kapitel 2.7).^[162,163] Da die Umsetzung des Trichloracetimidats mit dem Glycosyl-Akzeptor auf sehr milde Weise mit katalytischen Mengen des Lewis-sauren Trimethylsilyltrifluormethansulfonats (TMSOTf) erfolgt^[165] schien dies eine vielversprechende Methode für das vorliegende Syntheseproblem der Glycosylierung unter Berücksichtigung der säurelabilen Schutzgruppen sowie des sterischen Anspruches des Glycosyl-Akzeptors zu sein. Da sich in der vorangegangenen Methode nach Gravier-Pelletier^[161] vor allem die Umsetzung des Glycosyl-Donors **136** in ein entsprechendes Bromid-Intermediat **201** als schwierig erwiesen hatte, sollte hier mit dem bereits auf zwei Wegen dargestellten relativ stabilen Trichloracetimidat **137** (vgl. Kapitel 4.5.2) gearbeitet werden (Abb. 4.68).

In einem ersten Versuch der Glycosylierung wurde das Trichloracetimidat **137** zusammen mit der Threonin-abgeleiteten Modellsubstanz **101** in äquimolaren Mengen unter Zugabe von Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan gelöst, auf 0 °C gekühlt und langsam TMSOTf (0.05 Äq., 1% in Dichlormethan) hinzuge tropft. Nach 30 min konnte bereits ein guter Umsatz beobachtet werden, der sich nach weiteren 30 min jedoch nicht mehr änderte. So wurde die Zugabe des TMSOTf auf analoge Weise wiederholt. Nach 1.5 h konnte ein verbesserter Umsatz beobachtet werden, es trat vermehrt jedoch auch die Bildung von Nebenprodukten auf. Um den Einfluss der Temperatur zu überprüfen wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach 2 h kein weiterer Umsatz, aber eine Zunahme der gebildeten Zersetzungsprodukte festgestellt. Daraufhin wurde die Reaktion abgebrochen und das gewünschte Glycosylierungsprodukt **203** in einer guten Ausbeute von 44% erhalten (Tab. 4.12, Eintrag 1). Da gezeigt werden konnte, dass größere Mengen an TMSOTf ebenso wie Temperaturen oberhalb von 0 °C eine Zersetzung förderten, wurde in einem zweiten Versuch mit einer verringerten Menge an TMSOTf (0.06 Äq.) und einer größeren Menge an Glycosyl-Donor

(2.0 Äq.) gearbeitet, die Temperatur bei 0 °C gehalten und bereits nach 30 min abgebrochen. Auf diese Weise konnte die Ausbeute der Verbindung **203** auf 72% erhöht werden, wobei jedoch auch 5% des ungewünschten α -konfigurierten Produktes entstanden waren (Tab. 4.12, Eintrag 2). Beide Verbindungen konnten ohne Probleme säulenchromatographisch voneinander getrennt und die Ausbeuten nach der Reinigung als Reinausbeuten bestimmt werden. Da die Glycosylierung anteilig S_N1 - und S_N2 -artig ablaufen kann, wurde vermutet, dass aufgrund des eingesetzten β -Anomers des Trichloracetimidats **137** keine vollständige β -Stereoselektivität gewährleistet werden konnte. Für die in vorliegender Arbeit angestrebte Umsetzung war ein derartiges Verhältnis beider Anomere jedoch vollkommen zufriedenstellend, noch zumal sie sich trennen ließen. Als eindeutiger Beleg für die Identifizierung der Verbindung **203** konnte die Kopplung der Protonen in 1-Position im ^1H -NMR-Spektrum der beiden Substanzen verwendet werden, da beim β -Anomer **203** hierfür ein Singulett beobachtet wurde. Es war keine Kopplung zum benachbarten Proton in 2-Position aufgrund eines Winkels von nahezu 90° zu erwarten, diese war beim α -Anomer jedoch deutlich zu sehen. Da sich in dieser Glycosylierungsstudie auf die Synthese des β -Anomers **203** konzentriert werden sollte, wurde auf eine tiefergehende Charakterisierung des entstandenen α -Nebenproduktes sowie auf die Bestimmung von α/β -Anomerenverhältnissen verzichtet. Im Folgenden wurde die optimierte Glycosylierung anhand des sekundären Alkohols **100** getestet.

Dazu wurde das Trichloracetimidat **137** (2.33 Äq.) zusammen mit der *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **100** im Unterschuss unter Zugabe von Molekularsieb (3 Å) in

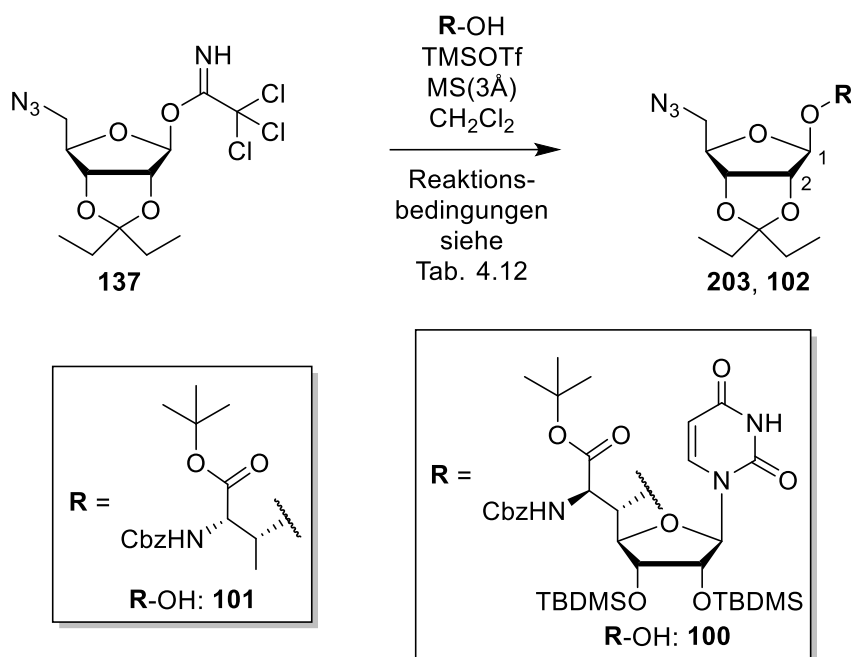


Abb. 4.68 Glycosylierungsversuche mit Trichloracetimidaten.

Dichlormethan gelöst. Die stark verringerte Menge an Akzeptor wurde aufgrund der sterischen Zugänglichkeit der sekundären Hydroxy-Funktion von Verbindung **100** gewählt, um dieser eine erhöhte Konzentration an Reaktionspartnern zu bieten. Es wurde auf 0 °C gekühlt und TMSOTf (0.07 Äq. 1% in Dichlormethan) hinzugegeben. Diese Zugabe wurde nach 1 h auf analoge Weise wiederholt und die Reaktion nach 1.5 h beendet. Es konnten drei Hauptprodukte erhalten werden, wobei eines das eingesetzte Startmaterial **100** war. Bei den anderen beiden Verbindungen handelte es sich um das gewünschte β -konfigurierte Glycosylierungsprodukt **102** sowie um dessen α -Anomer. Dabei konnte **102** in einer moderaten Ausbeute von 44% (69% brsm) isoliert werden. Für das α -Anomer konnte nur grob eine maximale Ausbeute geschätzt werden (< 15%) da dieses nie sauber isoliert werden konnte (Tab. 4.12, Eintrag 3). Da sich in diesen Glycosylierungsstudien wie bereits erwähnt auf die Synthese des benötigten β -Anomers konzentriert werden sollte, wurde auch hier auf eine weitergehende Charakterisierung des α -Anomers und die Bestimmung von α/β -Anomerenverhältnissen verzichtet. Als eindeutiger Beleg für die Identifizierung der Verbindung **102** konnte erneut die Kopplung der Protonen in 1-Position im ^1H -NMR-Spektrum der beiden Substanzen verwendet werden. Die recht gute Ausbeute für diese Art von Glycosylierung sollte anschließend noch einmal in Bezug auf einen besseren Umsatz optimiert werden.

Tab. 4.12 Reaktionsbedingungen der Glycosylierungsversuche mit Trichloracetimidaten.

Eintrag	Akzeptor	Äq. Donor	Äq. TMSOTf	Zeit	Temperatur	Ausbeute
1	101	1.0	2 x 0.05	2 h	0 °C -> Rt	203 : 44%
2	101	2.0	0.06	30 min	0 °C	203 : 72%, α : 5%
3	100	2.33	2 x 0.07	1.5 h	0 °C	102 : 44% (69% brsm) α < 15%
4	100	2.08	4 x 0.06	4 h	-10 °C	100 : 34% Zersetzung
5	100	5.56	4 x 0.17	31 h	-10 °C -> 0 °C -> Rt -> 35 °C	102 : Spuren Zersetzung
6	100	4.0	2 x 0.2	1.5 h	0 °C	Zersetzung

Dabei wurde zunächst die Temperatur auf -10 °C gesenkt um die Reaktion kontrollierter ablaufen zu lassen und dabei die Menge an TMSOTf (4 x 0.06 Äq, 1% in Dichlormethan) erhöht. Auf diese Weise sollte nach und nach mit jeder weiteren Zugabe der Umsatz

gesteigert werden. Das Verhältnis der eingesetzten Edukte blieb dabei zunächst ähnlich. Als Ergebnis konnte jedoch nur das eingesetzte Edukt **100** isoliert und eine Mischung aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten generiert werden (Tab. 4.12, Eintrag 4).

Aus diesem Grund wurde der Anteil an eingesetztem Donor weiter erhöht (5.56 Äq.) und eine längere Reaktionszeit gewählt. Da wenig bis gar kein Umsatz beobachtet werden konnte, wurde mit der Zeit die Temperatur immer weiter über insgesamt 31 h bis auf 35 °C erhöht. In diesem Fall konnten nur Spuren des gewünschten Glycosylierungsproduktes isoliert werden, der Großteil war erneut eine Mischung aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten (Tab. 4.12, Eintrag 5).

Dass die beiden letzten Versuche quasi gänzlich erfolglos blieben überraschte vor dem Hintergrund der erfolgreichen Darstellung der Verbindung **102** im ersten Glycosylierungsversuch, weshalb zu einer Temperatur von 0 °C und einer Reaktionszeit von 1.5 h zurückgekehrt wurde. Dabei musste jedoch festgestellt werden, dass sich die anfangs in guter Ausbeute ablaufende Reaktion durch eine mangelnde Robustheit auszeichnete, da mit dem Donor **137** im Überschuss (4.0 Äq.) und katalytischen Mengen TMSOTf (2 x 0.2 Äq.) erneut nur eine Mischung aus nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukten isoliert werden konnte (Tab. 4.12, Eintrag 6). Auf welche Art die Zersetzung stattfand konnte nicht geklärt werden, was weitere Untersuchungen erforderlich machte.

Dabei wurde zunächst versucht Feuchtigkeit in der Reaktion auszuschließen. Anstatt von Dichlormethan aus der MB SPS 800 wurde frisches Dichlormethan, welches mehrere Stunden über Calciumhydrid am Rückfluss getrocknet und unter Inertgas destilliert wurde, genutzt und schließlich sogar das Dichlormethan aus der MB SPS 800 noch einmal auf gleiche Weise getrocknet und verwendet, was jeweils nicht zum Erfolg führte. Auch ein Wechsel der Inertgasatmosphäre von Stickstoff auf Argon führte zu keinem besseren Ergebnis. Die Art der Herstellung des Trichloracetimidats wurde abgewandelt, indem es auf eine zweite Weise mit Polymer-Supported-DBU (PS-DBU)^[164] dargestellt wurde. Auch diese Bemühungen blieben erfolglos, was ebenso für eine Umstellung in der Durchführung der wässrigen Aufarbeitung galt, in der Phosphatpuffer anstelle von basischer ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung verwendet wurde. Auch eine direkte säulenchromatographische Reinigung des Reaktionsgemisches ohne weitere Aufarbeitung war nicht zielführend. Als zuletzt eine neue Charge des empfindlichen TMSOTf genutzt und dieses fortan nur noch unter Inertgasatmosphäre gelagert wurde, was jedoch ebenfalls kein verbessertes Ergebnis lieferte, musste erkannt werden, dass eine Robustheit des zuerst erzielten Ergebnisses nicht gegeben war und sich diese Methode für das zu lösende Glycosylierungsproblem als ungeeignet

herausstellte. Da in der Zwischenzeit auch die Threonin-abgeleitete Modellverbindung **101** erneut in dieser Reaktion genutzt worden war, bei der die Umsetzung nach wie vor gelang, wurde das Problem unmittelbar mit der Struktur der eingesetzten Nucleosyl-Aminosäure **100**, deren Schutzgruppenmuster und der Abgeschirmtheit der Hydroxy-Funktion bei zu harschen Bedingungen mit dem Lewis-sauren TMSOTf in Verbindung gebracht.

4.12.1.3 Glycosylierung mit Thioglycosiden

Eine weitere Variante zur erfolgreichen Durchführung der Glycosylierung sollte eine Umsetzung mithilfe von Thioglycosiden sein (vgl. Kapitel 2.7).^[166] Die Darstellung dieser Spezies α -**138** und β -**138** erforderte zwar etwas Optimierungsarbeit, konnte aber schließlich geleistet werden (vgl. Kapitel 4.5.3). Eine Möglichkeit der Glycosylierung mit Thioglycosiden war die Aktivierung mittels *N*-Iodsuccinimid (NIS) und Trifluormethansulfonsäure,^[211] die für vorliegendes Glycosylierungsproblem, mit leicht säurelabilen Molekülen jedoch als zu harsch eingestuft wurde. Deshalb sollte eine sehr viel mildere Aktivierung der Thioglycoside mithilfe von Dimethyl(methylthio)sulfonium-trifluormethansulfonat (DMTST) **109** als Aktivierungsreagenz, welches bereits einer literaturbekannten Strategie folgend dargestellt worden war (vgl. Kapitel 4.1.1),^[180] verwendet werden (Abb. 4.69).^[167]

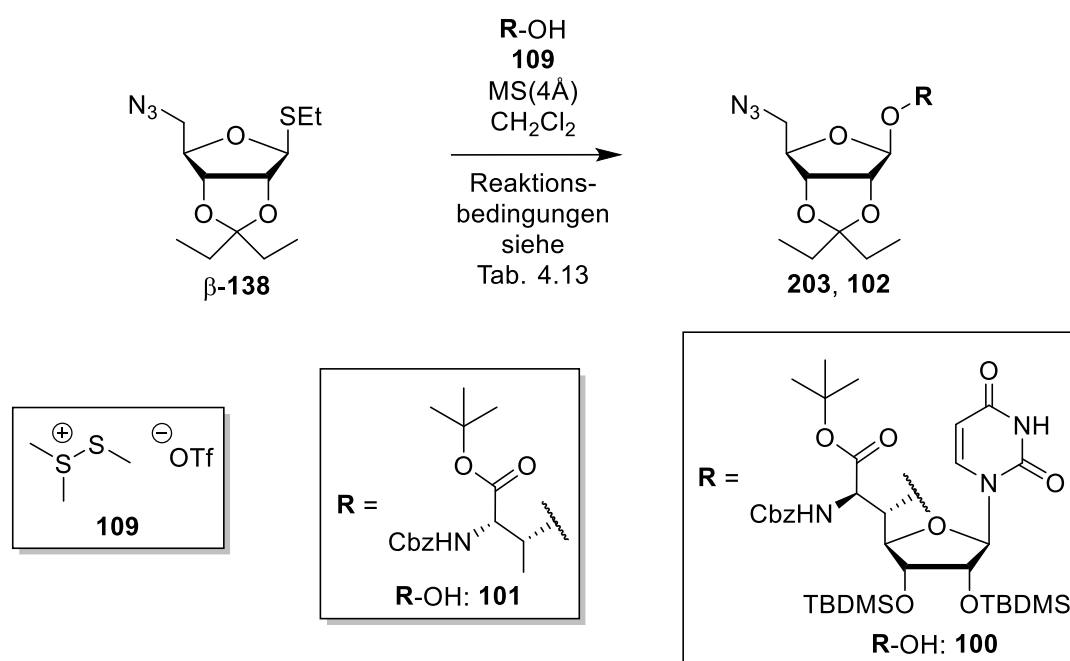


Abb. 4.69 Glycosylierungsversuche mit Thioglycosiden und DMTST.

Mithilfe der Threonin-abgeleiteten Modellverbindung **101** als Glycosyl-Akzeptor sollte auch diese Methode zunächst auf die generelle Eignung für das zugrunde liegende Glycosylierungsproblem geprüft werden. Dazu wurde diese zusammen mit dem Thioglycosid β -**138** und Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan gelöst und bei -15 °C mit DMTST im Überschuss (5.0 Äq.) versetzt. Da nach 3 h bereits ein Umsatz beobachtet werden konnte, sollte schon im ersten Versuch der Einfluss einer erhöhten Temperatur überprüft werden. Daher wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt, was jedoch zu einer vollständigen Zersetzung führte (Tab. 4.13, Eintrag 1).

In einem zweiten Versuch wurde daher die Temperatur zunächst bei -15 °C gehalten. Als nach 3.5 h kein weiterer Umsatz mehr zu beobachten war wurde auf -10 °C erwärmt. Eine Änderung blieb aus und es konnte zudem noch eine große Menge an eingesetztem Glycosyl-Akzeptor **101** ausgemacht werden. Durch die Zugabe von Triethylamin bei -10 °C wurde die Reaktion abgebrochen und auf diese Weise überschüssige Reste des DMTST neutralisiert. Für das gewünschte Glycosylierungsprodukt **203** konnte eine Ausbeute von 36% (60% brsm) erzielt werden, wobei auch das α -konfigurierte Anomer, jedoch nur in Spuren und verunreinigt, erhalten werden konnte (Tab. 4.13, Eintrag 2).

Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte in einem weiteren Versuch mit dem Glycosyl-Donor β -**138** (2.0 Äq.) in einem größeren Überschuss gearbeitet werden, um dem sekundären Alkohol des Glycosyl-Akzeptors **101** eine höhere Konzentration an potentiellen Reaktionspartnern zu liefern. Zudem sollte die Menge an Aktivierungsreagenz DMTST **109** (2.66 Äq.) stark reduziert werden, denn es wurde vermutet, dass das instabile Reagenz schnell zerfällt, da bereits nach kurzer Reaktionszeit kein weiterer Umsatz beobachtet werden konnte, und die Zersetzungsprodukte zu Nebenreaktionen führten. Bei gleichbleibender Reaktionsführung wurde die Temperatur für 2 h bei -15 °C gehalten. Dabei resultierte mit einer Ausbeute von 32% (44% brsm) zwar ein besserer Umsatz, die Ausbeute konnte jedoch im Vergleich zum vorangegangenen Versuch nicht gesteigert werden (Tab. 4.13, Eintrag 3). Die Bildung des α -Anomers konnte bei dieser Reaktionsführung nicht beobachtet werden. Was aber gezeigt werden konnte war, dass es möglich war mit geringeren Mengen an Akzeptor **101** und DMTST **109** zu arbeiten.

In einem ersten Versuch der Glycosylierung mit der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** wurde diese zusammen mit dem Thioglycosid β -**138** (2.5 Äq.) und Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan gelöst und bei -15 °C mit DMTST **109** im Überschuss (3.75 Äq.) versetzt. Als nach 2 h nur wenig Umsatz beobachtet werden konnte wurde auf -5 °C erwärmt und weitere 30 min gerührt. Da kein weiterer Umsatz

beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung abgebrochen. Auf diese Weise konnte das gewünschte Glycosylierungsprodukt **102** in einer wenig zufriedenstellenden Ausbeute von 5% (13% brsm) erhalten werden (Tab. 4.13, Eintrag 4), wobei über die Hälfte der eingesetzten Nucleosyl-Aminosäure **100** zurückgewonnen werden konnte.

Auch hier wurde in einem nächsten Versuch die Temperatur variiert und bei gleichbleibender Reaktionsführung zunächst 2 h bei -15 °C gerührt und innerhalb von 1 h auf Raumtemperatur erwärmt. Dabei wurde in diesem Fall auch wieder mehr DMTST **109** (3 x 2.8 Äq.) im stündlichen Abstand zugesetzt um einen besseren Umsatz zu erzwingen. Die Isolierung einer Mischung nicht näher identifizierbarer Zersetzungsprodukte war das Ergebnis (Tab. 4.13, Eintrag 5).

Tab. 4.13 Reaktionsbedingungen der Glycosylierungsversuche mit Thioglycosiden und DMTST.

Eintrag	Akzeptor	Äq. Donor	Äq. DMTST	Zeit	Temperatur	Ausbeute
1	101	1.25	5.0	4 h 1 h	-15 °C Rt	Zersetzung
2	101	1.43	5.7	3.5 h 1.5 h	-15 °C 10 °C	203 : 36% (60% brsm) α : Spuren, verunreinigt
3	101	2.0	2.66	2 h	-15 °C	203 : 32% (44% brsm)
4	100	2.5	3.75	2 h 30 min	-15 °C 5 °C	102 : 5% (13% brsm)
5	100	2.8	3 x 2.8	2 h 1 h	-15 °C Rt	Zersetzung
6	100	2.13	8 x 0.43 portionsweise	2 h 1.5 h	-15 °C 0 °C	102 : 5% (14% brsm)
7	100	2.38	3.57 stetig	3 h	0 °C	102 : 5% (12% brsm)
8	100	2.22	6.67 stetig	5 h	10 °C	102 : 5% Ausbeute geschätzt, verunreinigt

Da, wie bereits erwähnt, vermutet wurde, dass das DMTST **109** relativ schnell während der Reaktion in der Mischung zerfällt, wurde dies in einem weiteren Versuch kontrolliert (8 x 0.43 Äq.) alle 20 min portionsweise über 2 h hinzugefügt und noch 1.5 h bei 0 °C weiter gerührt. Erneut konnten wiederum nur 5% (14% brsm) Ausbeute mit sehr ähnlichem Umsatz wie zuvor erreicht werden (Tab. 4.13, Eintrag 6).

Da auf diese Weise jedoch gezeigt werden konnte, dass Temperaturen von 0 °C prinzipiell für diese Reaktion möglich waren, wurde im nächsten Versuch bei dieser Temperatur gearbeitet

und das DMTST **109** (3.57 Äq.) tropfenweise als Lösung (48 mM in Dichlormethan) hinzugegeben (Tab. 4.13, Eintrag 7). Zuletzt wurde eine Spritzenpumpe genutzt, bei 10 °C gearbeitet und das DMTST **109** über 5 h langsam hinzutropft (Tab. 4.13, Eintrag 8). Die Ergebnisse waren erneut sehr ähnlich zum ersten Glycosylierungsversuch mit der Nucleosyl-Aminosäure **100**. Somit musste festgestellt werden, dass eine Glycosylierung auf diese Weise mit Thioglycosiden prinzipiell zwar möglich war, was die Testreaktionen anhand der Threonin-Modellsubstanz **101** zeigten, sich die Methode aber als unbrauchbar bezüglich der genutzten Aktivierungsmethode mit DMTST **109** in Verbindung mit der starken sterischen Abschirmung des sekundären Alkohols der Nucleosyl-Aminosäure **100** herausstellte. Auch konnte nicht ausgeschlossen werden, dass das labile Aktivierungsreagenz DMTST **109** zur Bildung von Neben- und Zersetzungsprodukten beitrug und sich für das vorliegende Syntheseproblem nicht für die Aktivierung eignete.

In diesem Zusammenhang war bekannt, dass eine Aktivierung von Thioglycosiden auf noch mildere Weise mit Kupfer(II)bromid (CuBr_2) zu erzielen sein sollte (Abb. 4.70).^[168] Im Folgenden sollte dies zunächst erneut an der Threonin-abgeleiteten Modellsubstanz **101** überprüft werden. Deshalb wurden der Glycosyl-Donor, in diesem Fall das α -Anomer des Thioglycosids α -**138**, und der Glycosyl-Akzeptor **101** zunächst mit Toluol coevaporiert und unter Zusatz von Molekularsieb (4 Å) in einer Mischung aus *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan (1:1) gelöst. Nach 1 h wurde zunächst Tetrabutylammoniumbromid hinzugegeben und 1 h 15 min später das CuBr_2 . Nach 25 h konnte lediglich das eingesetzte Edukt **101** (96%) zurückgewonnen werden (Tab. 4.14, Eintrag 1).

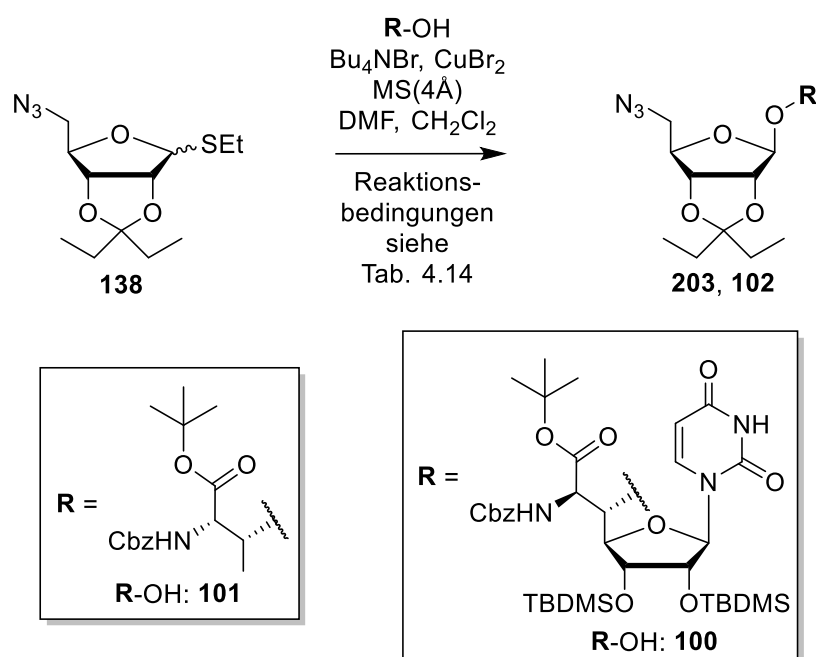


Abb. 4.70 Glycosylierungsversuche mit Thioglycosiden und CuBr_2 .

Da es sich um eine sehr milde Aktivierung handelt sollte sich durch längere Reaktionszeiten und erhöhte Temperatur ein Umsatz erzielen lassen. Analog zum vorangegangenen Protokoll, in diesem Fall wieder mit **β-138** als Thioglycosid, wurde die Reaktionsmischung zunächst 3 d gerührt. Da erneut kein Umsatz beobachtet wurde, wurde zunächst auf 35 °C und schließlich für 12 h auf 60 °C erwärmt. Die Lösung wurde braun, ein Umsatz konnte jedoch nicht festgestellt werden. Aufgrund der potentiellen Zersetzung der Aktivierungsreagenzien über die Zeit wurden erneut Tetrabutylammoniumbromid und CuBr₂ hinzugegeben und für weitere 12 h auf 150 °C erhitzt. Die Lösung entfärbte sich und es konnte nur ein Gemisch aus Zersetzungsprodukten isoliert werden (Tab. 4.14, Eintrag 2). Offensichtlich war diese Aktivierungsmethode nicht für das Modellsubstrat **101** geeignet, weshalb die Umsetzung mit der Nucleosyl-Aminosäure **100** nur ein einziges Mal der Vollständigkeit halber durchgeführt wurde.

Tab. 4.14 Reaktionsbedingungen der Glycosylierungsversuche mit Thioglycosiden und CuBr₂.

Eintrag	Akzeptor	Äq. Donor	Äq. Bu ₄ NBr / CuBr ₂	Zeit	Temperatur	Ausbeute
1	101	1.18	3.2 / 3.4	25 h	Rt	101 : 96%
2	101	2.0	3.2 / 3.4	4 d	Rt -> 150 °C	Zersetzung
3	100	2.0	4.0 / 4.0	36 h	Rt -> 140 °C	100 : 66%

Unter gleicher Vorgehensweise wurden dafür **β-138** und **100** (0.5 Äq.) unter Zusatz von Molekularsieb (4 Å) in einer Mischung aus *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan (1:1) gelöst. Es wurde 8 h bei Raumtemperatur und 36 h bei 140 °C gerührt, jedoch nur die Zersetzung des Donors **β-138** beobachtet. So konnte nur die *N*-Cbz-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **100** (66%) zurückgewonnen werden (Tab. 4.14, Eintrag 3), was noch einmal unterstrich, dass die vorliegende Glycosylierungsmethode für das zu lösende Syntheseproblem ungeeignet war.

4.12.1.4 Glycosylierung mit Pentenylglycosiden

Im Zuge weiterer Glycosylierungsmethoden mit milder Reaktionsführung sollte sich für das vorliegende Syntheseproblem auch eine literaturbekannte Strategie nach Bert Fraser-Reid anbieten (vgl. Kapitel 2.7).^[169] Dabei wurden Pentenylglycoside als Glycosyl-Donor-Spezies eingesetzt, welche je nach Beschaffenheit ihrer elektronischen Struktur auf verschiedene

Weise aktiviert und mit entsprechenden Akzeptoren umgesetzt werden konnten. In vorliegender Glycosylierungsreaktion bot sich dabei die Aktivierung mit *N*-Iodsuccinimid (NIS) und dem Lewis-sauren Triethylsilyltrifluormethansulfonat (TESOTf) an. Da dieses Reagenz als saurer Aktivator auch hier erneut nur in katalytischen Mengen eingesetzt werden sollte, wurde davon ausgegangen, dass sich diese Methode mit leicht säurelabilen Edukten vereinbaren lassen würde. Das Pentenylglycosid β -**139** konnte bereits erfolgreich dargestellt werden (vgl. Kapitel 4.5.4). Im Zuge der Aktivierung des Donors soll das Iod des NIS an der Doppelbindung angreifen und ein Iodonium-Ion resultieren. Daran schließt sich eine intramolekulare Ringschlussreaktion zwischen dem Sauerstoff-Atom am anomeren Zentrum mit der aktivierten Doppelbindung zu einem Tetrahydrofuran-Derivat an. Auf diese Weise wird das Carbenium-Ion am Glycosyl-Donor freigegeben, welches anschließend von der Hydroxy-Gruppe des Glycosyl-Akzeptors angegriffen werden kann (vgl. Kapitel 2.7, Abb. 2.19).

Auch bei dieser Methode wurde zunächst mit der Threonin-abgeleiteten Modells substanz **101** gearbeitet und diese zunächst mit dem Glycosyl-Donor β -**139** (1.3 Äq.) in Toluol coevaporiert. Die Edukte wurden unter Zugabe von Molekularsieb (4 Å) in Dichlormethan gelöst. Aufgrund des zur Radikalbildung neigenden NIS wurde in der Dunkelheit gearbeitet. Dieses wurde hinzugefügt (1.9 Äq.) und anschließend bei Raumtemperatur sehr langsam eine Lösung von TESOTf (0.37 Äq.) in Dichlormethan über 10 min hinzuge tropft. Bereits nach sehr kurzer Zeit konnte ein Umsatz beobachtet werden, der sich aber nach 10 Minuten bereits nicht mehr änderte. Die Zugabe des TESOTf wurde auf gleiche Weise zweimal wiederholt,

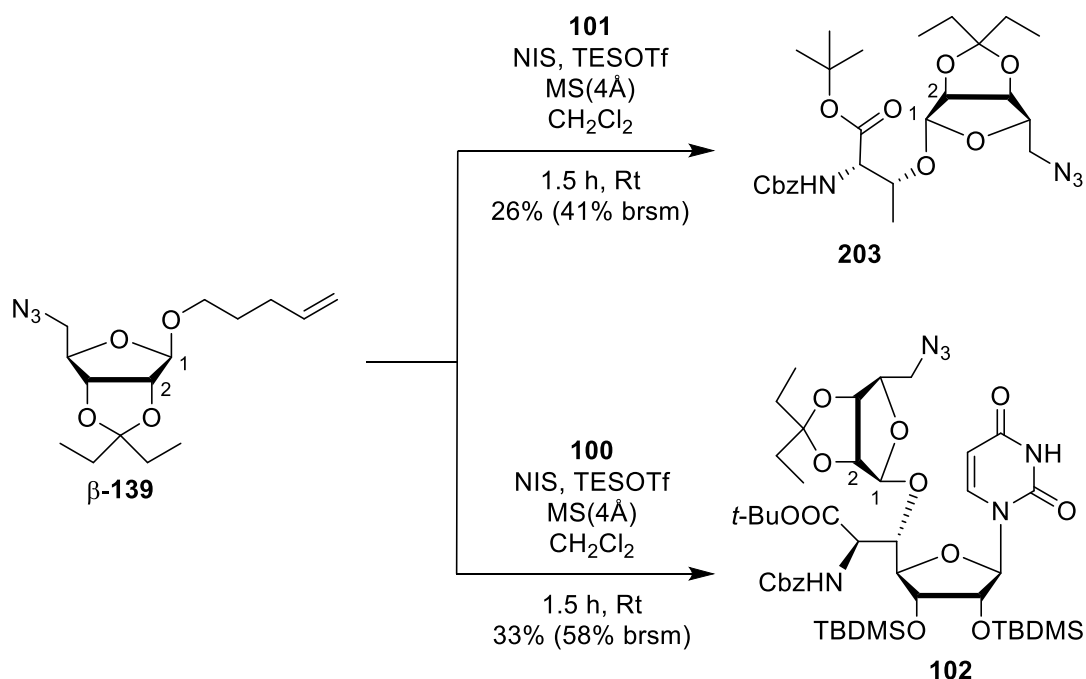


Abb. 4.71 Glycosylierungsreaktion mit Pentenylglycosiden.

wobei auch dies kaum etwas am bestehenden Umsatz änderte. Es wurde daher gemutmaß, dass das NIS bereits in der Reaktionsmischung zerfallen war, weshalb noch einmal NIS hinzugegeben wurde. Dies führte zwar zu einem besseren Umsatz, es konnte jedoch auch die Bildung ungewünschter Nebenprodukte beobachtet werden. Aus diesem Grunde wurde die Reaktion abgebrochen und das gewünschte Glycosylierungsprodukt **203** in einer Ausbeute von 26% (41% brsm) erhalten, wobei Teile des eingesetzten Eduktes **101** zurückgewonnen werden konnten (Abb. 4.71). Auch das unerwünschte α -konfigurierte Produkt konnte in einer Ausbeute von 9% (14% brsm) isoliert werden. Als eindeutiger Beleg für die Identifizierung der Verbindung **203** konnte erneut die Kopplung der Protonen in 1-Position im ^1H -NMR-Spektrum der beiden Substanzen verwendet werden, da beim β -Anomer **203** hierfür ein Singulett beobachtet wurde. Da sich in dieser Glycosylierungsstudie auf die Synthese des β -Anomers **203** konzentriert werden sollte, wurde auf eine tiefergehende Charakterisierung des entstandenen α -Nebenproduktes sowie auf die Bestimmung von α/β -Anomerenverhältnissen verzichtet. Im Folgenden wurde die Glycosylierung anhand der (5'S,6'R)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** getestet.

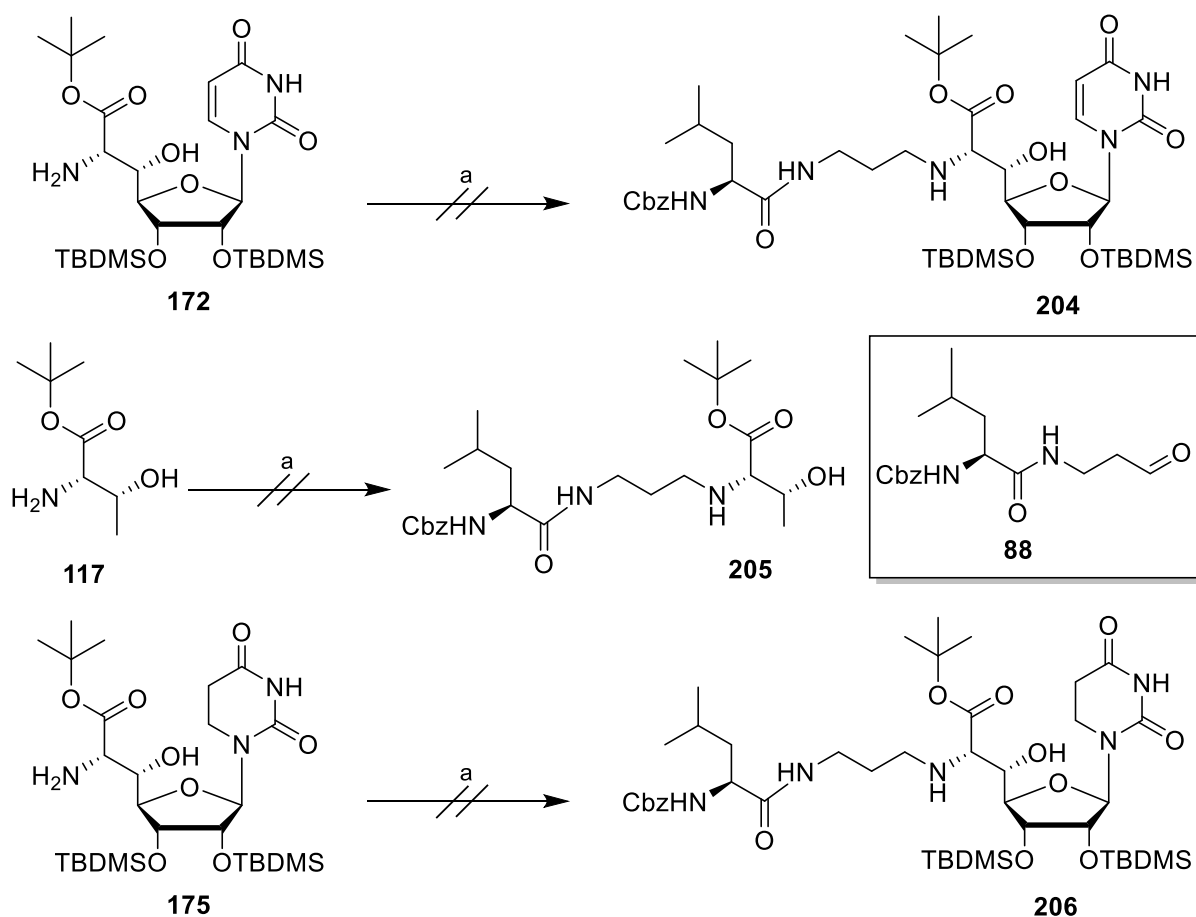
Die Reaktion wurde zunächst auf analoge Weise mit der Nucleosyl-Aminosäure **100** und Pentenylglycosid β -**139** (1.3 Äq.) durchgeführt. Dabei wurde jedoch bereits nach der zweiten Zugabe von TESOTf erneut NIS hinzugefügt und anschließend ein drittes Mal mit TESOTf versetzt um den Umsatz weiter zu steigern. Mit einer Ausbeute von 17% (34% brsm) des gewünschten Glycosylierungsproduktes **102** konnte auf diese Weise die bisher erfolgreichste Umsetzung erzielt werden, wenn vom Versuch mithilfe der Trichloracetimide abgesehen wurde (vgl. Kapitel 4.12.1.2), der sich jedoch als nicht robust genug herausstellte. Die Bildung des α -Anomers des Glycosylierungsproduktes **102** konnte in Spuren beobachtet werden, die Verbindung konnte jedoch nicht isoliert werden. Wie die Ausbeute zeigte, war der Umsatz noch wenig zufriedenstellend, da eine relativ große Menge an eingesetztem Akzeptor **100** (52%) reisoliert werden konnte. In einer weiteren Optimierung wurde auf eine Coevaporierung der Edukte verzichtet, die Zugabe von NIS und TESOTf (0.52 Äq.) nicht noch einmal wiederholt und die Lösung des TESOTf in Dichlormethan noch langsamer hinzugegeben. Dies wirkte sich zugunsten der Vermeidung der Bildung von Zersetzungsprodukten aus. Die Ausbeute konnte so noch einmal auf gute 33% (58% brsm) gesteigert werden (Abb. 4.71), der Reinsatz blieb jedoch sehr ähnlich. Dabei konnte festgestellt werden, dass sich ein etwas größerer Ansatz positiv auf die Ausbeute auswirkte. Für das α -Anomer konnte nur grob eine maximale Ausbeute geschätzt werden (< 10%) da dieses nie sauber isoliert werden konnte. Da sich in diesen Glycosylierungsstudien wie bereits

erwähnt auf die Synthese des benötigten β -Anomers konzentriert werden sollte, wurde auch hier auf eine weitergehende Charakterisierung des α -Anomers und die Bestimmung von α/β -Anomerenverhältnissen verzichtet. Als eindeutiger Beleg für die Identifizierung der Verbindung **102** konnte auch hier erneut die Kopplung der Protonen in 1-Position im ^1H -NMR-Spektrum der beiden Substanzen verwendet werden. Vor dem Hintergrund der sterisch anspruchsvollen sekundären Hydroxy-Gruppe des Glycosyl-Akzeptors **100** in Kombination mit der Tatsache, dass dieses Edukt sauber zurückgewonnen werden konnte, wurde diese Methode für die Lösung der Glycosylierungsproblematik trotz des nur moderaten Umsatzes als erfolgreich angesehen. Da sich für vorliegende Strategie mit Pentenylglycosiden nach Bert Fraser-Reid^[169] zudem eine stabile Reproduzierbarkeit herausstellte, sollte diese Methode im Folgenden zur Glycosylierung der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** auf dem Weg zum naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten aminoribosylierten Muraymycin-Analogen **97** genutzt werden.

4.12.2 Untersuchungen der reduktiven Aminierung mit (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren

Die reduktive Aminierung von Nucleosyl-Aminosäuren mit entsprechenden Aldehyden stellt einen Schlüsselreaktion im von Ducho und Mitarbeitern erarbeiteten dreiteiligen Ansatz (vgl. Kapitel 2.5.3 und Kapitel 3.3)^[79,132] zur stereoselektiven Darstellung von Muraymycin-Analoga dar. Eine Reaktion der Nucleosyl-Aminosäure **172** war in vorangegangenen Arbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho bereits auf dem Weg zu (5'S,6'S)-konfigurierten Muraymycin-Analoga versucht worden, führte dabei aber nicht zum Erfolg.^[132,174] Aus diesem Grund sollte diese Reaktion an dieser Stelle noch einmal evaluiert werden. Vermutet wurde dabei, dass die im Vergleich zu 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren, wie der Verbindung **43**, wesentlich größere Instabilität der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **172** durch ein Zusammenspiel zwischen primärem Amin in 6'-Position, dem Alkohol in 5'-Position - nominell also einem β -Hydroxy-Aminosäure-Motiv - und der Doppelbindung der Nucleobase erklärbar war. Diese Instabilität resultierte in einer Zersetzung in der folgenden reduktiven Aminierung.

Der Vollständigkeit halber wurde die Reaktion aus Nucleosyl-Aminosäure **172** und L-Leucin-abgeleitetem Aldehyd **88** (vgl. Kapitel 4.3.1) zunächst noch einmal nachvollzogen. Auf analoge Weise zu den bereits zuvor in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Reaktionsbedingungen^[132] wurden die beiden Edukte in Tetrahydrofuran mit Molekularsieb (4 Å) für 24 h zur Bildung des Iminium-Ions gerührt. Nach der Zugabe der Reagenzien



a: **88**, NaBH(OAc)₃, Amberlyst® 15, MS(4Å), THF, 2 d, Rt

Abb. 4.72 Studien zur reduktiven Aminierung mit (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäuren.

Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) konnte nach weiteren 24 h jedoch wie erwartet nur eine unbestimmbare Mischung aus Zersetzungsprodukten isoliert werden, wobei das gewünschte Produkt **204** nicht identifiziert werden konnte (Abb. 4.72). Auch die eingesetzte Aminosäure **172** konnte nicht reisoliert werden.

Da bereits gezeigt werden konnte, dass sich eine an der Nucleobase hydrierte (5'S,6'S)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **175** in der Synthese säulenchromatographisch reinigen ließ (vgl. Kapitel 4.8.3.3), eine Verbindung mit nicht mehr aromatischer und somit nicht mehr intakter Nucleobase also stabiler war, sollte ein weiterer Versuch der reduktiven Aminierung mit *tert*-Butylester-geschütztem Threonin **117** unternommen werden, welches im Zuge dieser Arbeit bereits dargestellt worden war (vgl. Kapitel 4.1.2.3). Auf diese Weise sollten durch das Fehlen der Uridineinheit und somit auch der Nucleobase bei Nachahmung des (5'S,6'S)- β -Hydroxy-Aminosäure-Motives weitere Einblicke gewonnen werden. Die reduktive Aminierung erfolgte dabei auf analoge Weise nach den etablierten Bedingungen, wobei als Edukte das Threonin-Derivat **117** und wiederum der L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **88** eingesetzt wurden. Jedoch führte auch dies zu vollständiger Zersetzung (Abb. 4.72). Auch in

diesem Fall war eine Reisolierung des eingesetzten Amins **117** nicht möglich. Bei einem analogen Versuch mit Nucleobasen-hydrierter Nucleosyl-Aminosäure **175** und Aldehyd **88** konnte dieses Ergebnis noch einmal bestätigt und keine Zielverbindung **206** isoliert werden (Abb. 4.72). Für die Reisolierung des eingesetzten Eduktes **175** galt dasselbe wie zuvor. Somit muss festgehalten werden, dass eine reduzierte Nucleobase zu einer größeren Stabilität der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure führt. Diese Stabilisierung scheint bei der Folgereaktion der reduktiven Aminierung aber eher eine untergeordnete Rolle zu spielen. Die Instabilität der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **172** in dieser Reaktion ist somit offensichtlich auf das β -Hydroxy-Aminosäuremotiv zurückzuführen, welches den sauren und reduktiven Bedingungen nicht standhielt. Mithilfe einer reduktiven Aminierung war die Umsetzung solcher (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäuren somit nicht durchzuführen.

4.12.3 Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **97**

Anhand der zuvor gemachten Beobachtungen war erwiesen, dass eine Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **97** nur auf eine Weise erfolgen kann, in der die 5'-Hydroxy-Funktion der Nucleosyl-Aminosäure **172** zunächst aminoribosyliert wird und die Verknüpfung in einer reduktiven Aminierung mit dem L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** in einem späteren Schritt erfolgt. Auf diese Weise würde die Instabilität des β -Hydroxy-Aminosäuremotives keine Rolle mehr spielen, was Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern bereits in der Synthese von Muraymycin D2 **22**^[127] zeigen konnten. Für die sich anschließende Glycosylierung musste die *tert*-Butylester-geschützte (5'S,6'S)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **172** mit der naturstoffanalogen Konfiguration zunächst *N*-Cbz-geschützt werden, wobei diese hydrogenolytisch spaltbare Schutzgruppe aufgrund der Orthogonalität des Schutzgruppenmusters gewählt wurde. Dafür wurden zunächst Benzyloxycarbonylchlorid und Natriumhydrogencarbonat als Base in Tetrahydrofuran vorgelegt und bei einer Temperatur von -60 °C mit einer Lösung von Nucleosyl-Aminosäure **172** in Tetrahydrofuran umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 3 h langsam auf Raumtemperatur erwärmt und die *N*-Cbz-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **33** in einer Ausbeute von 80% erhalten (Abb. 4.73). Die Instabilität des Eduktes **172** war der Grund für die Verwendung derart tiefer Temperaturen, wobei die Verbindung beim Auftauen kontrolliert in das *N*-Cbz-geschützte Derivat **33** überführt wurde.^[174]

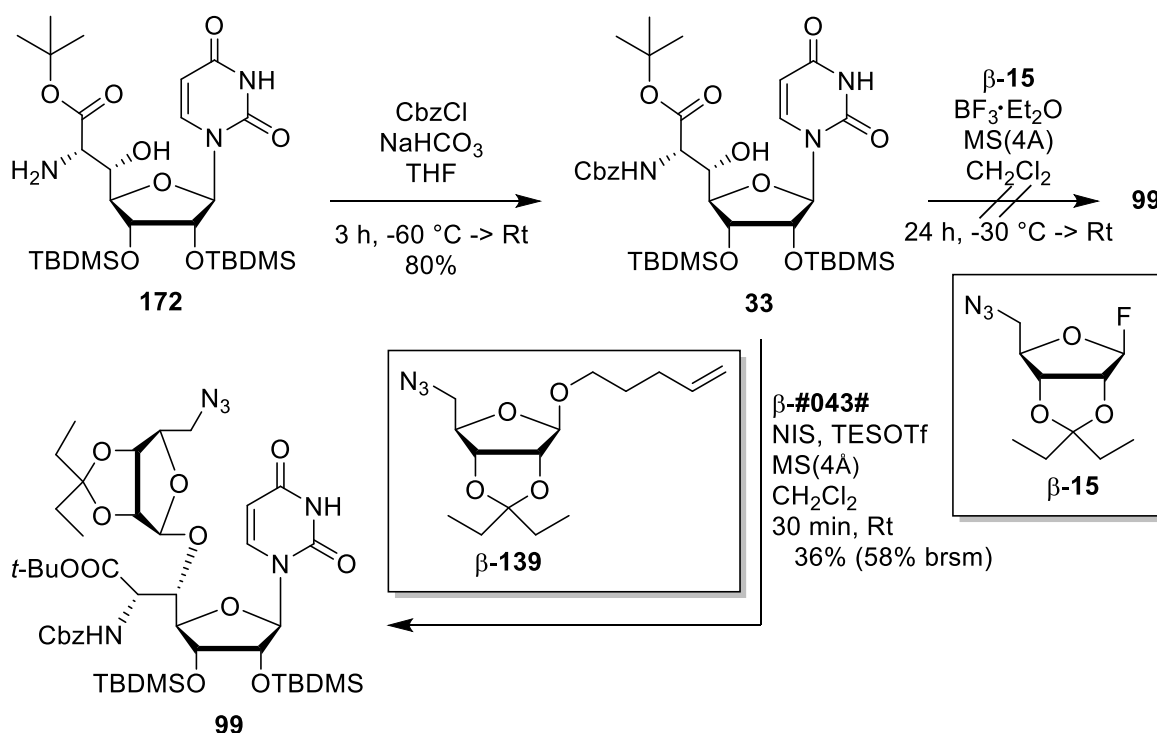


Abb. 4.73 Glycosylierung der (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **33**.

In der Zwischenzeit wurde in der Literatur eine Abwandlung der bereits zuvor erwähnten von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern^[124] etablierten Glycosylierungsreaktion mit β -Ribosyl-Fluorid **$\beta\text{-15}$** und Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$) als Aktivator publiziert,^[212] bei der mit TBDMS-geschützten Uridin-abgeleiteten Nucleosyl-Aminosäuren gearbeitet wurde. Es wurde jedoch vermutet, dass der von Ducho und Mitarbeitern verwendete *tert*-Butylester als Carboxyl-Schutzgruppe aufgrund seiner Säurelabilität, im Vergleich zum von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern verwendeten Methylester, das Hauptproblem dieser Umsetzung darstellte. Aus diesem Grund sollte diese Methode einmal der Vollständigkeit halber anhand an der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **33** getestet werden. Die beiden Edukte wurden in Dichlormethan mit Molekularsieb (4 Å) versetzt, bei $-30\text{ }^\circ\text{C}$ viermal in zwanzigminütigen Abständen mit $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (4 x 0.25 Äq.) versetzt und auf $-10\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt, wobei nach 4 h jedoch keinerlei Umsatz erzielt werden konnte. Erst bei Erhöhung der Temperatur und weiterer Zugabe von $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (2 x 1.0 Äq.) konnte gezeigt werden, dass die Reaktion bei Raumtemperatur langsam voranschritt, dies jedoch auch gleichzeitig mit der Bildung von Nebenprodukten einherging. Isoliert werden konnte auf diese Weise nur eine Mischung dieser nicht näher identifizierbaren Zersetzungsprodukte (Abb. 4.73), was noch einmal die Annahme bestätigte, dass der *tert*-Butylester das Hauptproblem in der Umsetzung der Aglycon-Einheit von Ducho und Mitarbeitern war und eine Reaktion mit $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$

unabhängig von der Reaktionsführung nicht für das zugrunde liegende Syntheseproblem geeignet war.

Für die nachfolgende Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion der Verbindung **33** sollten daher nun die zuvor optimierten Reaktionsbedingungen mit dem Pentenylglycosid β -**139** als Glycosyl-Donor angewendet werden (vgl. Kapitel 4.12.1.4). Dazu wurden der Glycosyl-Akzeptor **33** und der Glycosyl-Donor β -**139** (1.5 Äq.) zunächst mit Toluol coevaporiert. Die Edukte wurden unter Zugabe von Molekularsieb (4 Å) in Dichlormethan gelöst, und aufgrund des zur Radikalbildung neigenden NIS wurde in der Dunkelheit gearbeitet. Dieses wurde hinzugefügt (1.71 Äq.) und anschließend bei Raumtemperatur sehr langsam eine Lösung von TESOTf (0.72 Äq.) in Dichlormethan über 10 min hinzutropft. Die Zugabe beider Reagenzien wurde auf gleiche Weise nach weiteren 10 min wiederholt, wobei dieses Mal über 15 min zutropft und anschließend noch 15 min gerührt wurde. Da kein Glycosyl-Donor β -**139** mehr identifiziert werden konnte, wurde die Reaktion abgebrochen und das gewünschte Glycosylierungsprodukt **99** in einer Ausbeute von 20% (35% brsm) erhalten, wobei Teile des eingesetzten Eduktes **33** zurückgewonnen werden konnten. Ein Verzicht auf eine weitere Zugabe von NIS und TESOTf führte zu einer geringeren Bildung von Zersetzungsprodukten. Somit konnte die Ausbeute noch einmal auf gute 36% (58% brsm) gesteigert werden (Abb. 4.73).

Im Folgenden konnte gezeigt werden, dass sich die entwickelte Glycosylierungsmethode auch auf weitere Nucleosyl-Aminosäure-Derivate anwenden ließ. Daher wurde vom Azido-Indolamid **179** ausgegangen, welches in der Synthese zur (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** genutzt wurde (vgl. Kapitel 4.8.3.1). Dies wurde unter den modifizierten Bedingungen der Azid-Reduktion (vgl. Kapitel 4.8.3.1) in *iso*-Propanol mit 1,4-Cyclohexadien und Palladium Black zum Amin **207** innerhalb 1 h in quantitativer Ausbeute umgesetzt. Unmittelbar darauf wurde mit den oben stehenden Reaktionsbedingungen mit Benzyloxycarbonylchlorid und Natriumhydrogencarbonat als Base in Tetrahydrofuran *N*-Cbz-geschützt (Abb. 4.74). Dabei resultierte mit dem neuartigen *N*-Cbz-geschützten Indolamid **208** in 71% Ausbeute ein weiterer potentieller Kandidat für die optimierte Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion.

Da zu einer Glycosylierung dieser Verbindung noch keine Erfahrungswerte vorlagen, sollte die modifizierte Variante der von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern genutzten Strategie, die auch für TBDMS-geschützte Uridin-abgeleitete Nucleosyl-Aminosäuren anwendbar sein sollte (siehe oben), mit dem β -Ribosyl-Fluorid β -**15** und Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) als Aktivator zuerst getestet werden.^[212] Die beiden Edukte β -**15** und das *N*-Cbz-

geschützte Indolamid **208** wurden in Dichlormethan mit Molekularsib (4 \AA) versetzt und analog zum Glycosylierungsversuch der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **33** verfahren. Auch hier waren höhere Temperaturen, dieses Mal allerdings von lediglich 0°C nötig, um den Beginn eines Umsatzes zu erreichen. Es wurde im Laufe der Reaktion zwei weitere Male $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ ($2 \times 0.5 \text{ Äq.}$) hinzugefügt. Bei Erwärmung auf Raumtemperatur verbesserte sich der Umsatz erneut, wobei die Bildung von Nebenprodukten nicht so ausgeprägt voranschritt, wie bei dem Versuch dieser Methode mit der Nucleosyl-Aminosäure **33** (siehe oben), was das Indolamid **208** generell stabiler als den *tert*-Butylester **33** erscheinen ließ. Somit konnte zwar das erste Mal für diese Reaktion eine Ausbeute an

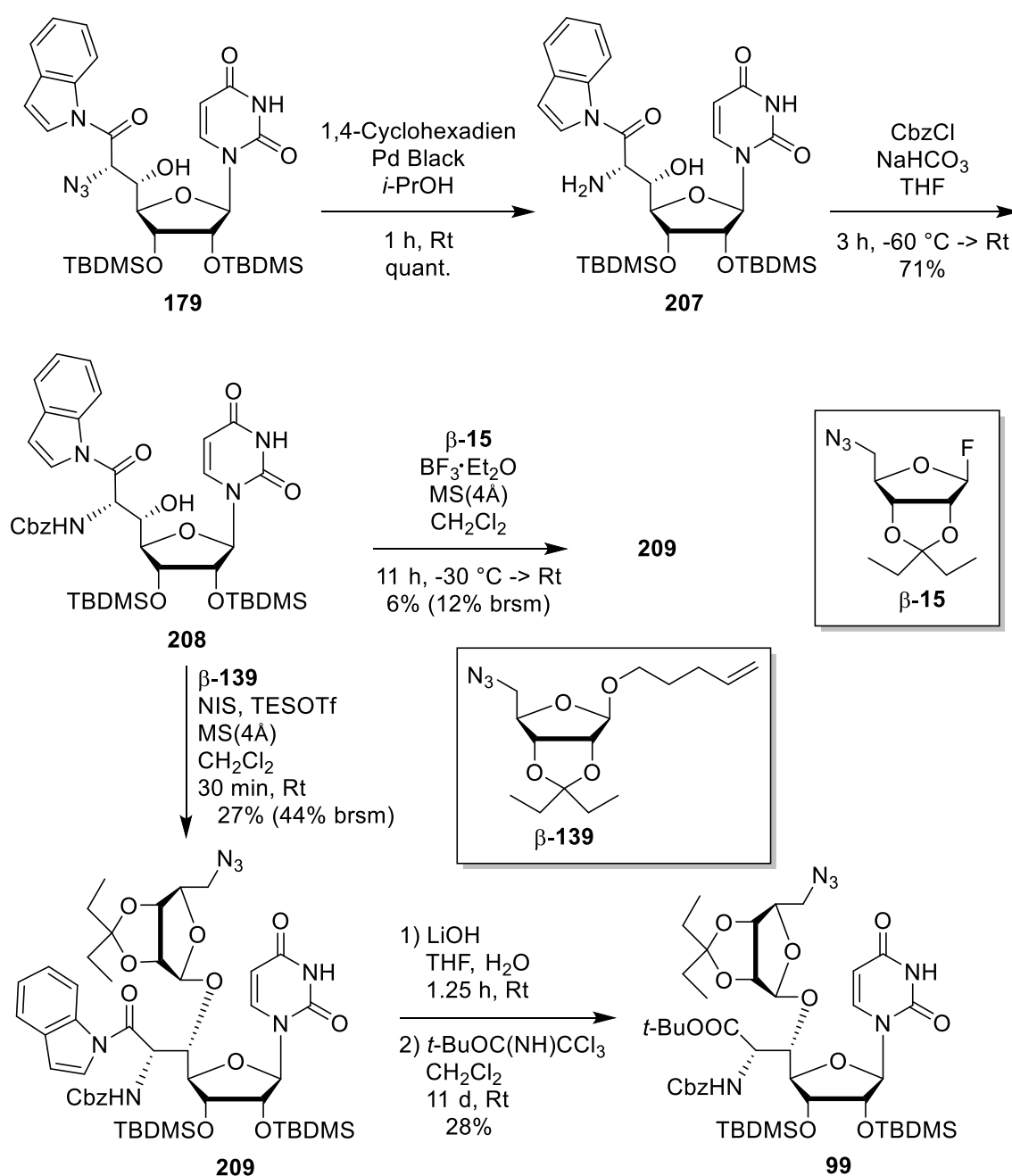


Abb. 4.74 Umkehrung von Glycosylierung und Umschüttung zur Nucleosyl-Aminosäure **99**.

Glycosylierungsprodukt **209** erzielt werden, jedoch betrug diese nur ernüchternde 6% (12% brsm) (Abb. 4.74). Die vermutete Bildung des entsprechenden α -Anomers konnte dünn-schichtchromatographisch nur in Spuren beobachtet werden. Das dargestellte Indolamid **208** eignet sich somit nur wenig bis überhaupt nicht in der Umsetzung mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ als Aktivator. Auch in vorliegendem Fall wurde daher nun Pentenylglycosid β -**139** (1.39 Äq.) als Glycosyl-Donor genutzt und auf diese Weise das Indolamid **208** als Akzeptor glycosyliert. Es wurde nach etabliertem Protokoll verfahren und nach NIS-Zugabe (2.0 Äq.) erneut sehr vorsichtig eine Lösung von TESOTf (0.67 Äq.) in Dichlormethan über 10 min hinzugeotropft. Es wurde noch 10 min gerührt, die Reaktion abgebrochen und daraufhin das gewünschte Glycosylierungsprodukt **209** in einer Ausbeute von 27% (44% brsm) (Abb. 4.74) erhalten. Dies zeigte, dass sich auch andere Glycosyl-Akzeptoren mit Pentenylglycosiden in ähnlichen Ausbeuten unter Anwendung der entwickelten Reaktionsbedingungen glycosylieren ließen. Zuletzt wurde auch die abschließende zweistufige Umschätzung des Indolamids **209** zum *tert*-Butylester **99**, die in Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho nur mäßige bis moderate Ausbeuten geliefert hatte, in Angriff genommen. Das Indolamid **209** wurde in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel mit 0.1 M Lithiumhydroxidlösung (2.0 Äq.) versetzt, 45 min bei Raumtemperatur gerührt, erneut 0.1 M Lithiumhydroxidlösung (0.9 Äq.) hinzugegeben und weitere 30 min gerührt. Die resultierende Carbonsäure wurde unverzüglich in Dichlormethan gelöst, die Reaktionslösung mit *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (5.0 Äq.) versetzt und 11 d gerührt, wobei nach 3 d, 6 d und 9 d erneut *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (5.0 Äq.) hinzugegeben wurde. Die aminoribosylierte *tert*-Butylester-Nucleosyl-Aminosäure **99** konnte in einer mäßigen Ausbeute von 28% erhalten werden (Abb. 4.74). Vor dem Hintergrund der Basenlabilität der glycosylierten Verbindung, bei der eine α/β -Eliminierung auftreten kann, überraschte diese nur moderate Ausbeute bei basischen Reaktionsbedingungen nicht. Diese Labilität war bereits aus der Umschätzung des glycosylierten Methylesters auf den *tert*-Butylester, die in nur moderaten Ausbeuten verlief, aus der Synthese von Muraymycin D2 **22** von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern bekannt.^[123,124,127] Es konnte an dieser Stelle jedoch gezeigt werden, dass die aminoribosylierte Nucleosyl-Aminosäure **99** auf diese Weise, bei der die Glycosylierungs- und die Umschätzungsreaktion innerhalb der Gesamtsequenz getauscht worden waren, in ähnlichen Ausbeuten dargestellt werden konnte.

Für die abschließende globale saure Entschätzungsreaktion zum aminoribosylierten Muraymycin-Analogon **97** sollte nun das Azid der Nucleosyl-Aminosäure **99** in eine *N*-Boc-Aminogruppe überführt werden. Dazu sollte eine Staudinger-Reduktion mit anschließender

Boc-Schätzung durchgeführt werden, so wie sie bereits zur Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds **95** (vgl. Kapitel 4.4.1) und von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern bei der Darstellung von Muraymycin D2 **22** verwendet worden war.^[124,185] Das Azid **99** wurde hierfür in einer Mischung aus Toluol und Tetrahydrofuran (1:1) als Lösungsmittel mit Triphenylphosphan (3.0 Äq.) und Wasser (50 Äq.) versetzt und 13 h auf 50 °C erwärmt. Unter diesen Bedingungen wurde das primäre Amin generiert, das im Eintopfverfahren, nachdem die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur gekühlt worden war, durch die anschließende Zugabe von Di-*tert*-butyldicarbonat (2.0 Äq.) und Natriumhydrogencarbonat (2.0 Äq.) unmittelbar weiter umgesetzt wurde (Abb. 4.75). Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte so die *N*-Boc-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **210** in einer mäßigen Ausbeute von 37% isoliert werden. Dass die Ausbeute nur gering war überraschte, da es bisher bei dieser Reaktion keinerlei Probleme gegeben hatte. In einem weiteren Versuch konnte die Bildung von Nebenprodukten im ersten Teil der Reaktion,

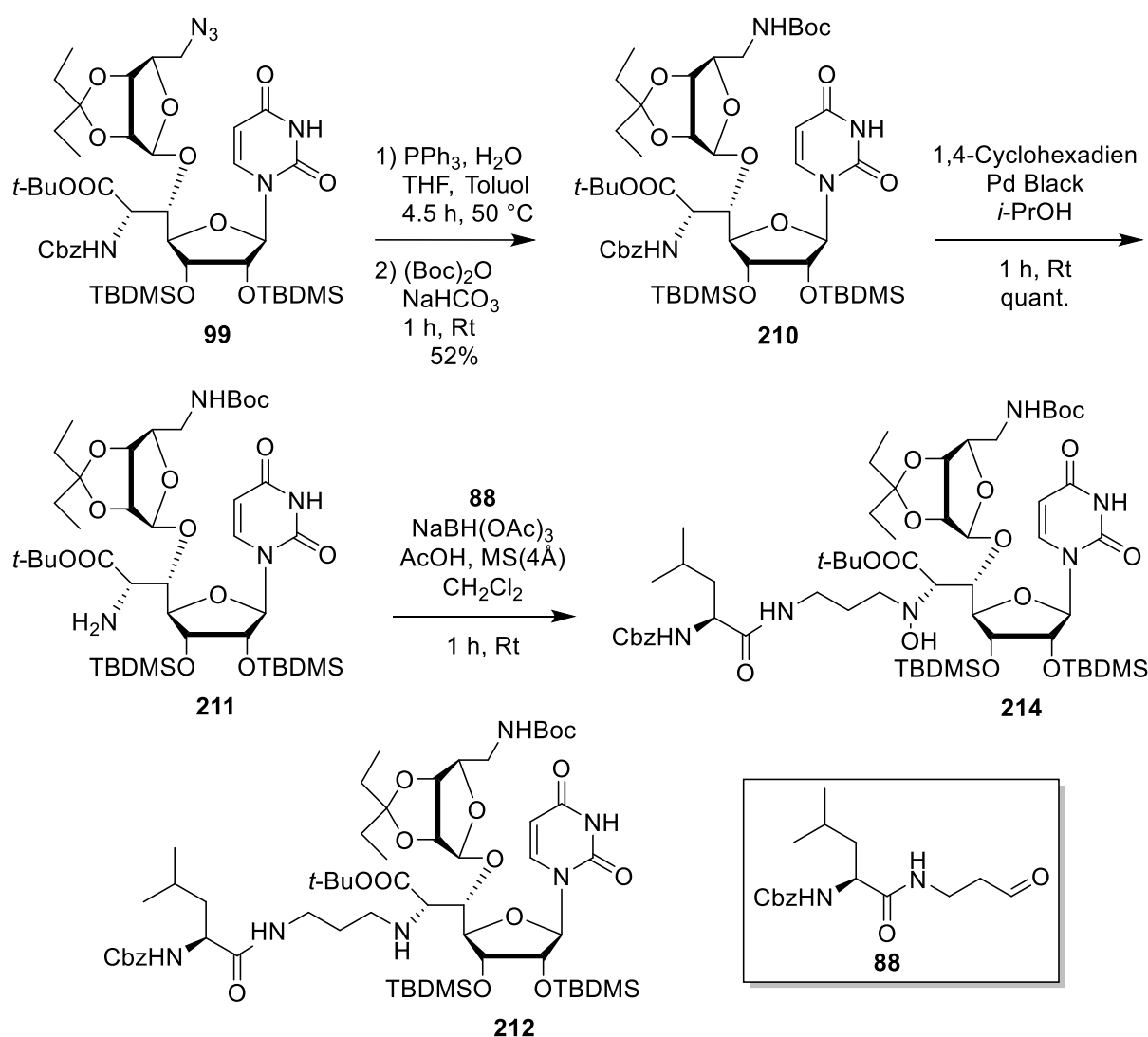


Abb. 4.75 Synthese der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-Nucleosyl-Aminosäure **214**.

der Reduktion des Azids zum primären Amin, festgestellt werden. Darum wurde die Reaktionszeit abweichend zu den üblichen Bedingungen auf 6 h verkürzt, da zu diesem Zeitpunkt bereits ein vollständiger Umsatz des Eduktes beobachtet worden war. Die Reaktionszeit der Boc-Schätzung hingegen wurde nach Abkühlen auf Raumtemperatur auf 15 h verlängert und die Menge des zugegebenen Di-*tert*-butyldicarbonats (4.0 Äq.) verdoppelt um sicher zu gehen, dass eine vollständige Umsetzung stattfand. Prinzipiell konnte jedoch gezeigt werden, dass bereits nach 1 h kein primäres Amin mehr zu detektieren war. Die Ausbeute konnte auf diese Weise auf 51% gesteigert werden. In einem letzten Versuch wurde die Reduktion bereits nach 4.5 h abgebrochen und erneut nur 1 h *N*-Boc-geschützt. Mit 52% war die Ausbeute der *N*-Boc-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **210** nicht wesentlich besser (Abb. 4.75), sodass zusammenfassend festgehalten werden muss, dass nicht die *N*-Boc-Schätzung sondern die anfängliche Staudinger-Reduktion das Problem darstellte, ohne dass geklärt werden konnte, welche Art von Nebenreaktion oder Zersetzung eingetreten sein könnte. Es konnte jedoch genug Substanzmenge für die weiteren Umsetzungen generiert werden, sodass von einer weiteren Optimierung der Reaktionsbedingungen abgesehen wurde. Den nächsten Schlüsselschritt des von Ducho und Mitarbeitern etablierten dreiteiligen Ansatzes einer stereoselektiven Darstellung von Muraymycinen (vgl. Kapitel 2.5.3 und Kapitel 3.3)^[79,132] sollte nun erneut eine reduktive Aminierung darstellen. Dazu wurde zunächst die Nucleosyl-Aminosäure **210** hydrogenolytisch *N*-Cbz-entschützt, um das Edukt für die anschließende reduktive Aminierung zu erhalten. Mit den optimierten Entschützungsbedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.1) konnte das primäre Amin **211** in *iso*-Propanol mit 1,4-Cyclohexadien und Palladium Black in 1 h quantitativ dargestellt werden (Abb. 4.75).

Für die folgende reduktive Aminierung 5'-aminoribosylierter Verbindungen, wie des primären Amins **211**, lagen in der Arbeitsgruppe Ducho noch keinerlei Erfahrungswerte vor. Dennoch sollte eine Umsetzung mit dem L-Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** (vgl. Kapitel 4.3.1) nach den in der Arbeitsgruppe Ducho etablierten Bedingungen^[132] eigentlich ohne Probleme möglich sein. So wurden die Edukte in Tetrahydrofuran mit Molekularsieb (4 Å) für 24 h zur Bildung des Iminium-Ions gerührt. Nach der Zugabe der Reagenzien Amberlyst® 15 (0.22 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (2.0 Äq.) konnte nach weiteren 24 h eine Mischung aus drei Verbindungen erhalten werden. Eine Analyse mittels NMR-Spektroskopie war aufgrund von Rotamerenbildung nicht möglich. Basierend auf dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurden die Anteile der einzelnen Verbindungen in dieser Mischung bestimmt. Dabei war das eingesetzte primäre Amin **211** (ca. 45%), das gewünschte

Produkt **212** (ca. 25%) und eine Verbindung, deren Molekülmasse der des gewünschten Produktes $m/z + 16$ (ca. 30%) entsprach, was zunächst nicht erklärt werden konnte, enthalten. Die Gesamtausbeute der Mischung betrug lediglich ca. 50%. Wurde diese Mischung erneut bei gleichbleibender Reaktionsführung umgesetzt, resultierte eine Mischung ähnlicher Zusammensetzung mit den gleichen drei Verbindungen. Die in der Arbeitsgruppe Ducho für 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren optimierte Reaktionsführung der reduktiven Aminierung schien für das vorliegende Syntheseproblem somit nicht reaktiv genug und daher ungeeignet zu sein. Möglicherweise spielte dabei auch eine durch die Aminoribose zusätzlich erhöhte sterische Hinderung des primären Amins **211** eine entscheidende Rolle.

Aus der Literatur war bekannt, dass Ichikawa, Matsuda und Mitarbeiter für reduktive Aminierungen derartiger aminoribosylierter Analoga saure Bedingungen unter Zuhilfenahme eines Überschusses an Essigsäure (10 Äq.) erzeugten.^[127] Diese war zwar milder als die Sulfonsäuren aus dem Amberlyst-Harz, durch den Überschuss sollte die Reaktion aber wesentlich schneller ablaufen, was auch die gewählten Reaktionszeiten zeigten. Dazu wurden das primäre Amin **211** und der Aldehyd **88** unter Zugabe von Molekularsieb (4 Å) in Dichlormethan gelöst, mit Essigsäure versetzt und Natriumtriacetoxyborhydrid (3.3 Äq.) im Überschuss hinzugegeben (Abb. 4.75). Bereits nach 1 h konnte ein vollständiger Umsatz festgestellt werden und die Reaktion wurde abgebrochen. Erneut war aufgrund von Rotamerenbildung eine NMR-spektroskopische Charakterisierung nicht möglich. Basierend auf einer säulenchromatographischen Reinigung und dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) einer LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit des Kupplungsproduktes angenommen und eine gute Ausbeute von ca. 70% bestimmt. Da eine genaue Ausbeutebestimmung nur anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen möglich gewesen wäre, wurde die Ausbeute nicht in der Abbildung 4.75 angegeben. Bei der isolierten Verbindung handelte es sich nun gänzlich um das Produkt mit einer Masse von $m/z + 16$. Dies überraschte sehr und wurde zunächst auf eine Anomalie während der massenspektrometrischen Messung zurückgeführt. Als diese um 16 Massen erhöhten Molekülmassen jedoch auch bei den Produkten der folgenden Umsetzungen bis hin zur Zielverbindung beobachtet werden konnten, wurde noch einmal genauer geprüft, worum es sich dabei handelte. Dabei fand aufgrund von Rotamerenbildung eine genaue NMR-spektroskopische Untersuchung erst wieder anhand der Zielverbindung der Syntheseroute statt, wobei sich zeigte, dass es sich nicht um das (5'S,6'S)-konfigurierte aminoribosylierte Muraymycin-Analogons **97** sondern um das leicht modifizierte Hydroxylamin **213** (Abb. 4.79) handelte, was erstaunlich war, da das Auftreten einer derartigen Verbindung

bisher nicht beobachtet werden konnte. Aus dem ^1H -NMR-Spektrum konnte dies nicht geschlossen werden, doch die Verschiebungen der Kohlenstoffatome in Nachbarschaft zum 6'-N-Atom des Nucleosyl-Aminosäure-Motives im ^{13}C -NMR-Spektrum (C-6' und C-1'') waren eindeutige Indizien dafür, dass dieses 6'-N hydroxyliert worden war (Abb. 4.76). Dabei wurde das 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **76** zum Vergleich hinzugezogen, wohlwissend, dass dies ein Analogon ohne Aminoribose war. Diese sollte an der 5'-Hydroxy-Funktion jedoch keinen allzu großen Einfluss auf die ^{13}C -Verschiebung des C-6' und auf das noch weiter entfernte C-1'' haben. Vergleicht man diese Signale so ergeben sich für Verbindung **76** Verschiebungen von $\delta = 44.27$ (C-1'') und $\delta = 59.48$ (C-6'). Diese Signale waren in der

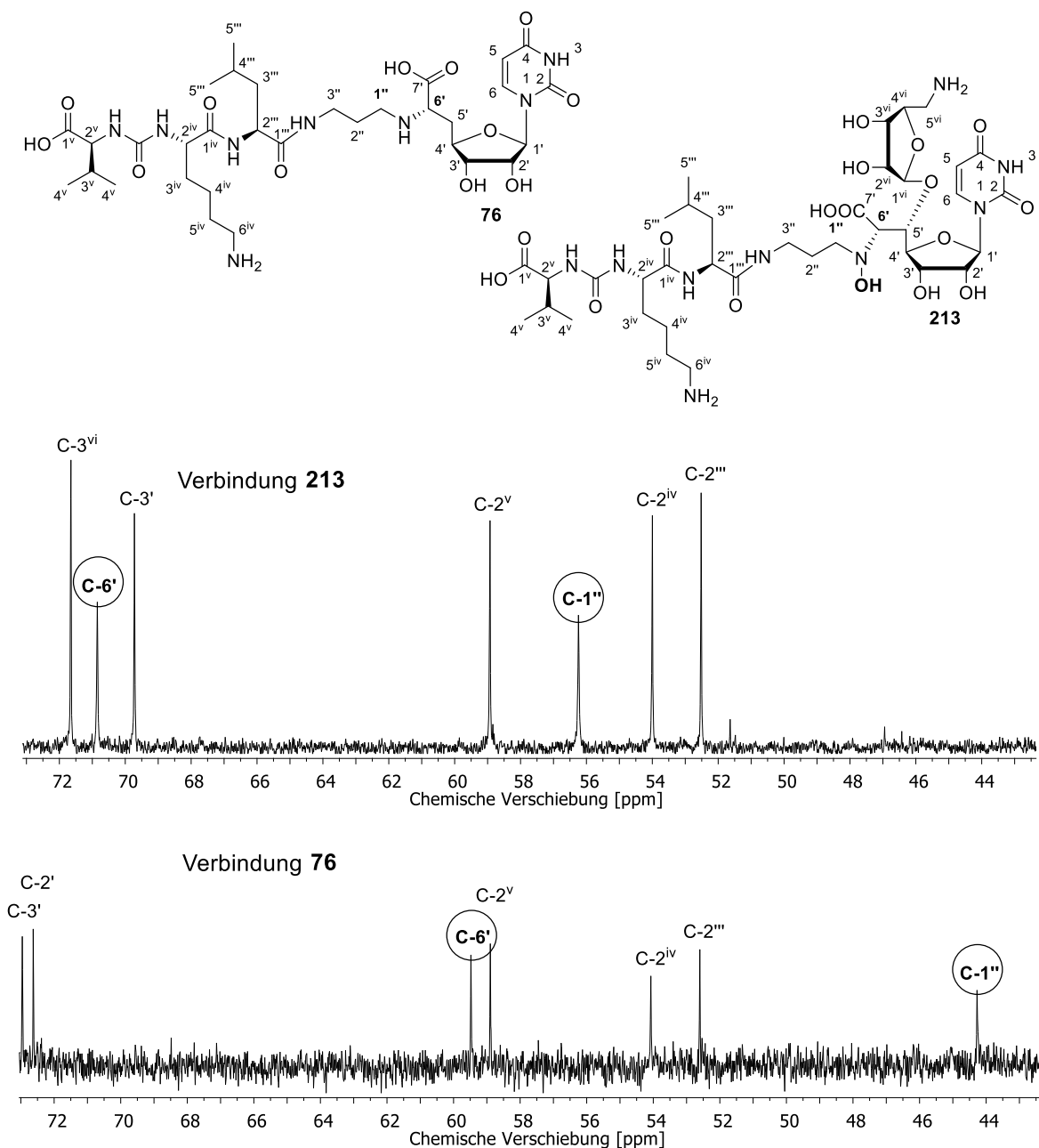


Abb. 4.76 Ausschnitt aus den ^{13}C -NMR-Spektren (126 MHz, D_2O) von Referenzverbindung **76** und 5'-aminoribosyliertem Muraymycin-Analogon **213**.

Zielverbindung **213** mit einem Unterschied von 11-12 ppm wesentlich weiter ins Tieffeld verschoben. Dabei ergaben sich Verschiebungen von $\delta = 56.24$ ($C-1''$) und $\delta = 70.85$ ($C-6'$), wobei die Verschiebungen der übrigen Kohlenstoffatome in beiden Verbindungen nur wenig voneinander abwichen, was auch im abgebildeten Ausschnitt für die übrigen Kohlenstoffatome $C-2'''$, $C-2^{iv}$, $C-2^v$ und $C-3'$ zu sehen ist und weiterhin zeigte, dass diese Hydroxy-Funktion mit keinem anderen Stickstoff im Molekül verknüpft sein konnte (Abb. 4.76). Die Indizien, dass das 6'-*N* hydroxyliert vorlag wurden letztlich eindeutig durch die Messung einer hochaufgelösten exakten Masse der Zielverbindung belegt, welche genaue Übereinstimmung mit der berechneten Masse des Hydroxylamins **213** zeigte.

Als die Struktur aufgeklärt und somit belegt war, dass es sich bei dem Produkt der vier Synthesestufen vorher durchgeführten reduktiven Aminierung nicht um die Verbindung **212** sondern um das Hydroxylamin **214** handelte (Abb. 4.75), musste noch geklärt werden, wie es unter reduktiven Reaktionsbedingungen der Aminierung zum Einbau dieses Sauerstoffatoms ins Molekül gekommen war. Dabei wurde angenommen, dass Katalysatorreste des Palladium Blacks (eventuell mit Wasserstoffatomen belegt) aus der vorherigen hydrogenolytischen Abspaltung der *N*-Cbz-Schutzgruppe zum primären Amin **211** in die reduktive Aminierung verschleppt worden waren (Abb. 4.75). Somit fände nach dem nucleophilen Angriff des primären Amins **211** auf den Aldehyd **88** keine Wasser-Eliminierung unter Iminbildung statt, sondern die Hydroxy-Gruppe des gebildeten Halbaminals würde unter den durch das Palladium Black geschaffenen radikalischen Bedingungen unmittelbar auf das Amin übertragen werden (Abb. 4.77). Dabei würde zunächst ein Wasserstoffradikal vom Palladium abstrahiert werden und ein Stickstoffradikal entstehen, welches jedoch nicht stabilisiert ist.

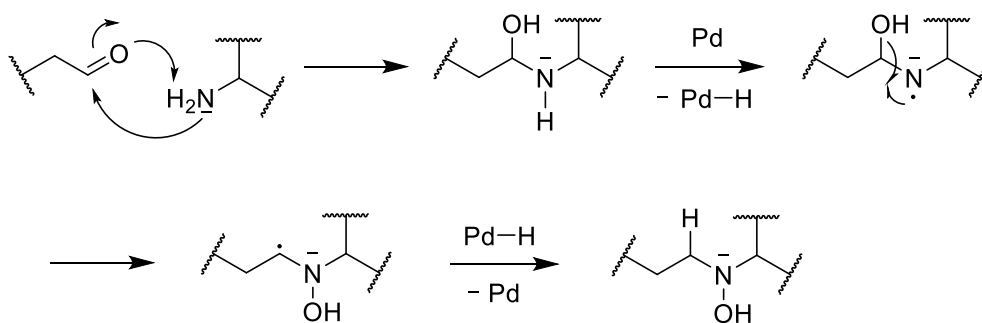


Abb. 4.77 Mechanistische Betrachtung der Übertragung der Hydroxy-Gruppe.

Ein anschließender homolytischer Bindungsbruch der *C-O*-Bindung mit Übertragung der Hydroxy-Gruppe auf das Stickstoffatom würde in einem Kohlenstoffradikal in Nachbarschaft zum Stickstoff resultieren. Ein solcher *C-O*-Bindungsbruch wäre nicht unwahrscheinlich, da das entstehende Kohlenstoffradikal durch Hyperkonjugation mit dem freien Elektronenpaar

des Stickstoffes stabilisiert ist. Abschließend würde dieses Kohlenstoffradikal ein Wasserstoffradikal vom Palladium binden und auf diese Weise die radikalische Wanderung der Hydroxy-Gruppe abgeschlossen sein (Abb. 4.77). Eine Reduktion durch das zugegebene Natriumtriacetoxyborhydrid hat somit nicht stattgefunden und es wurde das Hydroxylamin **214** isoliert (Abb. 4.75). Dabei war bemerkenswert, dass diese Verbindung derart stabil war, dass dieses Motiv bis zum Abschluss der Syntheseroute Bestand hatte.

Wie bereits angedeutet konnten die folgenden beiden Reaktionen aufgrund von Rotamerenbildung nicht NMR-spektroskopisch charakterisiert werden. Die Produkte der *N*-Cbz-Entschützung sowie der Peptidkupplung konnten jedoch massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Basierend auf dem UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse wurde eine hinreichende Reinheit der Produkte angenommen, auf diese Weise die Ausbeuten abgeschätzt und nicht in den Abbildungen aufgeführt. Die folgende hydrogenolytische *N*-Cbz-Entschützung konnte erneut mithilfe der optimierten Reaktionsbedingungen (vgl. Kapitel 4.8.1.1) durchgeführt und das primäre Amin **215** in einer Ausbeute von ca. 95% erhalten werden (Abb. 4.78). Mit 2.5 h war die Reaktionszeit in *iso*-Propanol mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Palladium Black etwas länger als bei vorherigen Ansätzen, was sich jedoch nicht negativ auf die Ausbeute auszuwirken schien. Den vorletzten Schritt des dreiteiligen stereoselektiven Syntheseansatzes (vgl. Kapitel 2.5.3

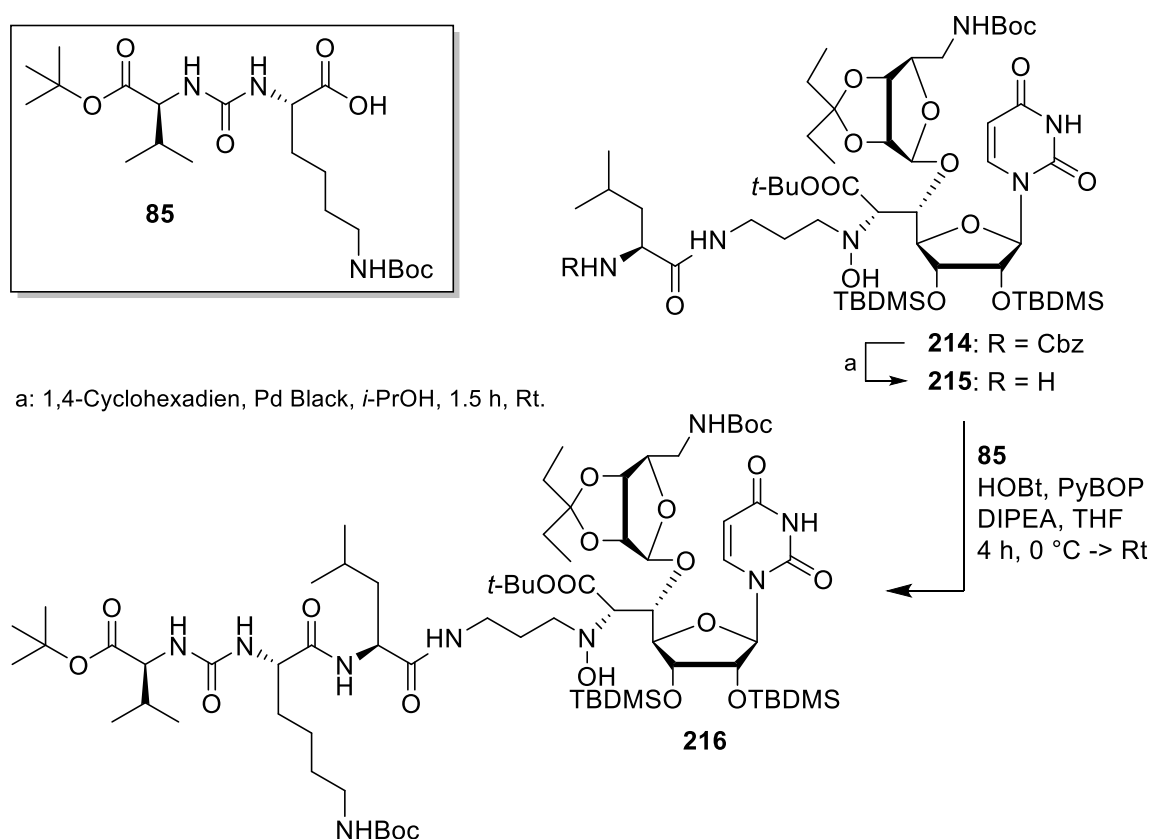


Abb. 4.78 Synthese des vollständig geschützten aminoribosylierten Muraymycin-Vorläufers **216**.

und Kapitel 3.3)^[79,132] stellte auch in vorliegender Route die Peptidkupplung mit dem *tert*-Butylester-Harnstoffdipeptid **85** als letzter Schlüsselschritt dar.^[132] Dazu wurde das Harnstoffdipeptid **85** zunächst in Tetrahydrofuran gelöst, unter Zugabe von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und DIPEA innerhalb von 30 min aktiviert und bei 0 °C eine Lösung des zuvor generierten primären Amins in Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur konnte das vollständig geschützte Vorläufermolekül **216** des aminoribosylierten (5'*S*,6'*S*)-Muraymycin-Analogons **213** in einer guten Ausbeute von ca. 80% isoliert werden (Abb. 4.78)

Abschließend wurde die Verbindung **216** zum aminoribosylierten (5'*S*,6'*S*)-Muraymycin-Analogon **213** global sauer entschützt. Dies wurde nach den von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern etablierten Reaktionsbedingungen^[127] mit 80% Trifluoressigsäure in Wasser in einer Reaktionszeit von 12 h erreicht. Dabei wurden die *tert*-Butylester, die Silylether, die Boc-Schutzgruppen und die Isopentylden-Schutzgruppe gespalten und auf diese Weise das erste 5'-aminoribosylierte Muraymycin-Analogon in der Arbeitsgruppe Ducho in einer

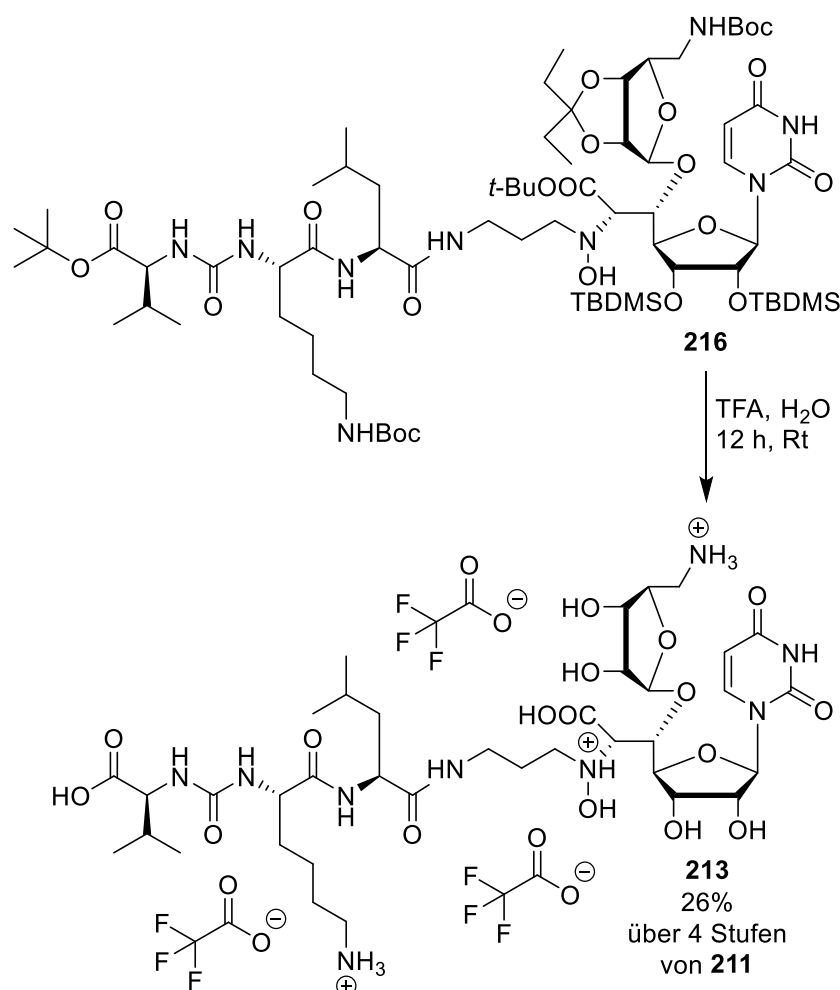


Abb. 4.79 Synthese des (5'*S*,6'*S*)-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **213**.

Ausbeute von 26% nach semipräparativer HPLC-Reinigung über 4 Stufen von **211** dargestellt. Dieses Analogon **213** unterschied sich dabei von der ursprünglich anvisierten Zielverbindung **97** nur durch die Präsenz einer zusätzlichen Hydroxy-Gruppe am 6'-N-Atom des Nucleosyl-Aminosäure-Motives (Abb. 4.79). Ein Muraymycin-Analogon mit einem solchen Motiv an dieser Position war neu und bisher noch nicht dargestellt worden. Somit wäre es bei gezielter Darstellung einer solchen Verbindung möglich, mit derartigen Molekülen einen neuen Strukturtyp zu etablieren. In der folgenden biologischen Evaluierung sollte die Verbindung **213** auf ihr Potential als antibiotisch aktiver Wirkstoff getestet werden.

4.12.4 Biologische Evaluierung des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **213**

Die biologische Evaluierung wurde in der Arbeitsgruppe Ducho von S. Koppermann und J. Ludwig durchgeführt. Es wurde die inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegenüber einer Membranpräparation von MraY aus *S. aureus* in einem Fluoreszenz-basierten Assay^[68,69]

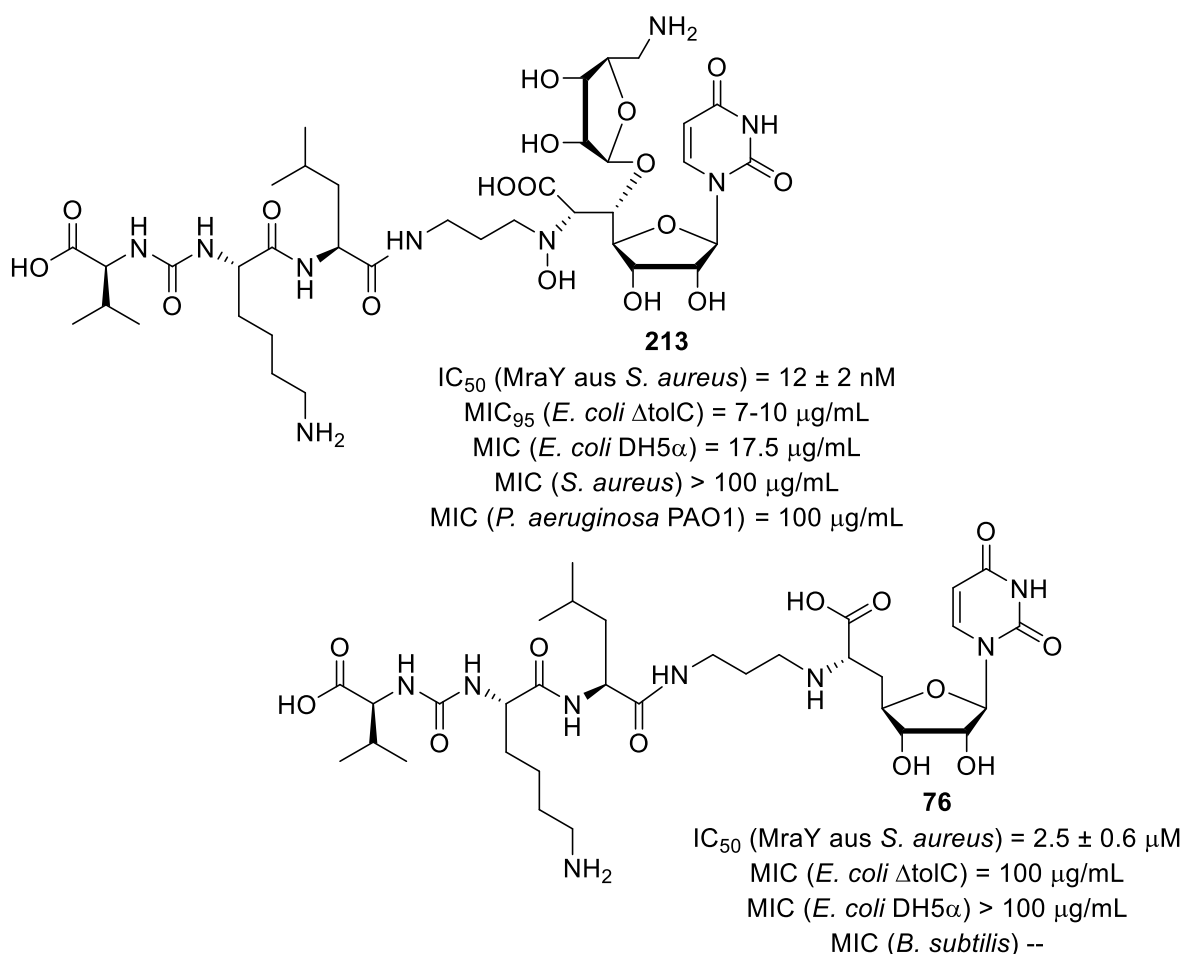


Abb. 4.80 Biologische Evaluierung des (5'S,6'S)-5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **213**.

bestimmt. Die Werte sind in Abb. 4.80 aufgeführt.

Vergleicht man diesen Wert mit dem des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **76** ($IC_{50} = 2.5 \pm 0.6 \mu M$) fällt sofort auf, dass das 5'-aminoribosylierte Analogon **213** ($IC_{50} = 12 \pm 2 nM$) eine deutlich höhere inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegenüber *MraY* aus *S. aureus* aufweist (Abb. 4.80). Entgegen der Annahme, dass eine Aminoribosylierung dieser Position nicht zwingend notwendig ist, da auch Muraymycin-Naturstoffe ohne dieses Motiv existieren,^[65] zeigt die Messung, dass diese Struktur an 5'-Position eine starke Verbesserung der inhibitorischen Aktivität zu bewirken scheint. Es muss an dieser Stelle jedoch bedacht werden, dass die Struktur von **213** im Vergleich zu **76** nicht nur in der Aminoribose sondern auch in der zusätzlichen Hydroxy-Funktion am 6'-N-Atom abweicht. Der Einfluss der Aminoribose lässt sich somit nicht direkt bestimmen, wobei dennoch vermutet wurde, dass der Einfluss der Hydroxy-Gruppe nicht allzu groß sein sollte und dass die Aminoribose eine Schlüsselinteraktion mit dem aktiven Zentrum des *MraY* eingeht, was in Übereinstimmung mit dem 2016 veröffentlichten Cokristall von *MraY* mit Muraymycin D2 **22** steht.^[105]

Für die antibakterielle Aktivität wurden gegen mehrere Bakterienstämme (vgl. Kapitel 4.10.5) Minimale Inhibitorische Konzentrationen (MIC) bestimmt. Weitere Stämme außer *E. coli* waren der Gram-positive *S. aureus* und der Gram-negative *P. aeruginosa* (PAO1), da diese auch klinisch im Bezug auf Resistenzbildungen sehr relevant sind. Die Werte sind in Abb. 4.80 aufgeführt.

War die 5'-Desoxy-Referenzverbindung **76** inaktiv gegen diese Bakterienstämme, so führte die Aminoribose bemerkenswerterweise offensichtlich zu einer guten Aktivität gegen die Gram-negativen *E. coli* Stämme, wobei ein möglicher Einfluss der zusätzlichen Hydroxy-Gruppe im Molekül **213** auf diesen Effekt bedacht werden muss. Für *E. coli* DH5 α wurde eine MIC von 17.5 $\mu g/mL$ bestimmt. Gegen *E. coli* $\Delta tolC$ war die Aktivität sogar noch einmal bedeutend höher ($MIC_{95} = 7-10 \mu g/mL$). Dabei wurde der MIC_{95} bestimmt, da der Abfall der Kurve bei der Bestimmung des standardmäßigen MIC_{50} so stark war, dass dieser nicht bestimmt werden konnte. In einem solchen Fall wird im Vergleich zur DMSO-Kontrolle über die Optische Dichte (OD) der Wert bestimmt an dem statt wie üblich noch 50% Bakterienwachstum zu beobachten ist (MIC_{50}) nur noch 5% Wachstum festgestellt werden kann (MIC_{95}), was quasi einer vollständigen Wachstumshemmung gleichkommt. Dies wertet die bestimmte antibakterielle Aktivität noch einmal wesentlich im Vergleich zum MIC_{50} gegen *E. coli* DH5 α auf. Möglicherweise könnten die Unterschiede in den Werten gegen beide *E. coli*-Stämme, wie auch bei den Muraymycin-Prodrugs vermutet, an Efflux-Effekten

durch die Effluxpumpe TolC in DH5 α liegen. Ob die generelle antibakterielle Aktivität mit einer besseren Zellaufnahme zusammenhängt oder ob schon die geringen Mengen, die in die Zelle gelangen, ausreichen um das Target effektiv zu inhibieren, konnte nicht geklärt werden. Ein eventuell stattfindender aktiver Transport der Verbindung **213** in die Bakterienzelle wurde nicht untersucht, könnte jedoch durch die Aminoribose im Molekül begünstigt werden. Somit sollte festgehalten werden, dass jede der aufgeführten Möglichkeiten eine Rolle spielen könnte. Gegen den Gram-positiven Bakterienstamm *S. aureus* konnte keine, gegen den Gram-negativen *P. aeruginosa* (PAO1) nur eine sehr geringe Aktivität (MIC = 100 $\mu\text{g/mL}$) festgestellt werden (Abb. 4.80). Ob dabei erneut die Zellgängigkeit oder aber Efflux und Abbau eine Rolle spielen konnte nicht geklärt werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass mit dem 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogen **213** sowohl eine inhibitorisch gegen *MraY* aus *S. aureus* sehr potente als auch gegen *E. coli* aktive Verbindung dargestellt werden konnte, was die Schlüsselinteraktion der Aminoribose an der 5'-Position mit dem Target *MraY* noch einmal unterstreichen würde, wobei ein möglicher Einfluss der zusätzlichen Hydroxy-Funktion im Molekül **213** nicht vergessen werden darf. Da mit dem Hydroxylamin **213** ein neuer bioaktiver Strukturtyp gefunden werden konnte müsste dieser Einfluss des *N*-Hydroxy-Motives noch geklärt werden, was jedoch nicht mehr Teil der vorliegenden Arbeit war (vgl. Kapitel 6).

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Darstellung und biologische Evaluierung der POM-Ester-Muraymycin-Prodrugs **72**, **73**, **74** und **75**, der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga **89** und **90** und deren deribosylierten Referenzen **91** und **92**, sowie des 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **97**, für welches eine Glycosylierungsreaktion der 5'-Hydroxy-Funktion entwickelt werden sollte.

Die Pivaloyloxymethyl-(POM)-Muraymycin-Prodrugs, namentlich das Bis-POM-Prodrug **73** und die Mono-POM-Prodrugs **74** und **75**, konnten erfolgreich dargestellt werden. Das verkürzte Prodrug **72** stellte sich als synthetisch schwer zugänglich heraus. Da jedoch in der Arbeitsgruppe Ducho gezeigt werden konnte, dass nur Muraymycin-Analoga mit vollständigem Rückgrat signifikante biologische Aktivität aufweisen, wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

Die genannten Prodrugs wurden ausgehend von Uridin **1** in einer 10- beziehungsweise 11-stufigen Synthesesequenz in einem dreiteiligen stereokontrollierten Ansatz dargestellt (Abb. 5.1). Die Synthese der Stammverbindung **76** konnte mit der gleichen in der Arbeitsgruppe Ducho erarbeiteten Methode nachvollzogen werden (15% über 10 Stufen, ohne Abbildung). Die Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] als Schlüsselschritt (vgl. Kapitel 4.8.1.4, Abb. 4.30) gelang für alle drei Prodrugs mit dem POM-Ester-Phosphonat **79**, welches aus dem entsprechenden Methylester **80** mithilfe von POM-I **112** generiert werden konnte (vgl. Kapitel 4.2.2, Abb. 4.7). Das (6'*S*)-Stereozentrum wurde in einer folgenden homogenen asymmetrischen Hydrierung mithilfe des chiralen Rhodium(I)-Katalysators (*S,S*)-Me-DUPHOS **46** aufgebaut (vgl. Kapitel 4.8.1.4, Abb. 4.30).^[149,150] Freie Amine in Kombination mit POM-Estern im Molekül führten zu Zersetzung. Daher wurden alle Amine im Verlauf der Synthese als TFA-Salze dargestellt, was zu der Konsequenz führte, dass in der reduktiven Aminierung des TFA-Salzes der Nucleosyl-Aminosäure **162** mit dem Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** ein leichter Überschuss an DIPEA (2.0 Äq.) nötig war (vgl. Kapitel 4.10.2, Abb. 4.46). Da zudem gezeigt werden konnte, dass die etablierten globalen sauren Entschützungsbedingungen mit 80% TFA in Wasser^[127] zu hart für die säurelabilen POM-Ester waren, wurde in Entschützungsstudien erarbeitet, dass für die TBDMS-Ether, die Boc-Schutzgruppen und die acetalischen Schutzgruppe 20% TFA in Wasser zur Spaltung ausreichend sind, für die *tert*-Butylester hingegen 40-60% benötigt werden. Somit resultierte eine Peptidkupplung^[132] von TFA-Salz **191** mit dem POM-Ester-Harnstoffdipeptid **83** (vgl. Kapitel 4.10.2, Abb. 4.48) und anschließende globale saure Entschützung mit 20% TFA

in Wasser im darzustellenden Bis-POM-Prodrug **73** (7% über 10 Stufen, Abb. 5.1). Für das Mono-POM-Prodrug **74** mit der POM-Gruppe am Nucleosyl-Aminosäure-Motiv wurde in der Peptidkupplung von **191** das Benzylester-Harnstoffdipeptid **86** genutzt und in einer

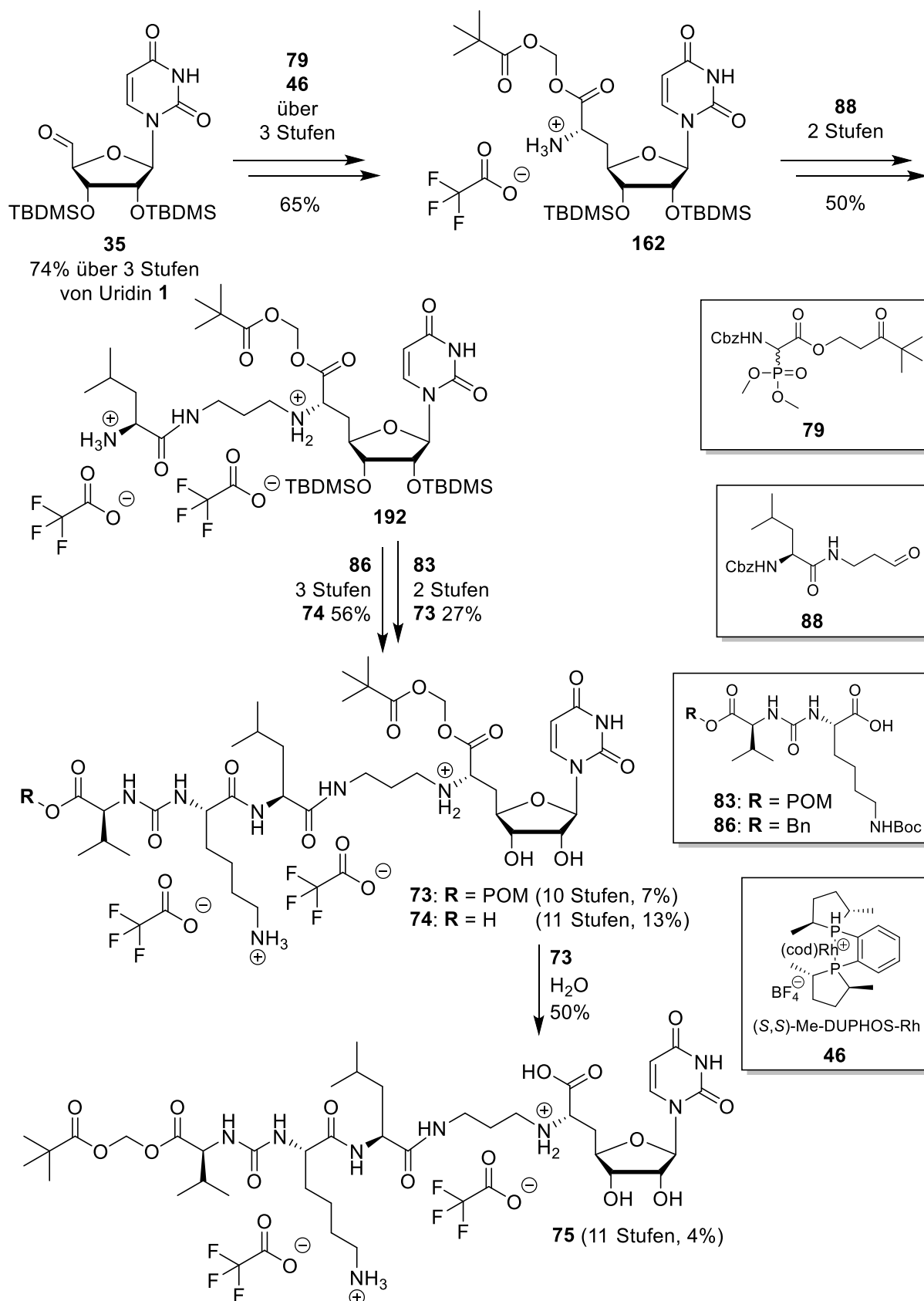


Abb. 5.1 Synthese der Muraymycin-Prodrugs **73**, **74** und **75**.

abschließenden zweistufigen Entschützung der Ester zunächst hydrogenolytisch gespalten und mit 20% TFA in Wasser global sauer entschützt (13% über 11 Stufen) (vgl. Kapitel 4.10.3, Abb. 4.52). Es konnte gezeigt werden, dass die POM-Gruppe an der Nucleosyl-Aminosäure-Funktion labiler als die endständige POM-Gruppe an der Peptidkette war. Daher wurde das Bis-POM-Prodrug **73** für 7 d in Wasser gerührt und auf diese Weise das Mono-POM-Prodrug **75** mit einer an der Peptidkette endständigen POM-Gruppe generiert (4% über 11 Stufen, Abb. 5.1). Die für die Peptidkupplungen benötigten Harnstoffdipeptide **83** und **86** konnten ausgehend von L-Valin- und L-Lysin-Vorstufen aufgebaut werden, wobei die Harnstoffkupplung für **83** mithilfe von Thiocarbamaten (vgl. Kapitel 4.6.1.3, Abb. 4.21) und für **86** über das entsprechende L-Valin-Isocyanat zugänglich gemacht wurde (vgl. Kapitel 4.6.2, Abb. 4.22).

Alle Zielverbindungen wurden als ihre TFA-Salze isoliert und anschließend biologisch evaluiert. Dabei wiesen **73** und **75** keine inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegen *MraY* aus *S. aureus* auf, was jedoch aufgrund der Maskierungsgruppen zu erwarten war. Für **74** war interessanterweise eine Aktivität ca. halb so groß wie die der Stammverbindung **76** gezeigt worden, was den Schluss nahelegte, dass auch **74** ein potentieller *MraY*-Binder war. Für **73** und **74** konnte eine antibakterielle Wirkung gegen das Gram-negative *E. coli* Δ tolC festgestellt werden (MIC (**73**) = 25 μ g/mL, MIC (**74**) = 32 μ g/mL). Der erarbeitete Prodrug-Ansatz schien also grundsätzlich erfolgreich zu sein. Aufgrund erster qualitativer Stabilitätstests wurde zudem vermutet, dass **73** zunächst zu **74**, möglicherweise schon im LB-Medium des Assays, zerfiel und **74** die eigentliche antibakterielle Komponente darstellte. Die POM-Maskierung am Nucleosyl-Aminosäure-Motiv schien somit unabdingbar bei der Generierung antibiotisch aktiver Prodrug-Wirkstoffe zu sein, wohingegen die Maskierung am Peptidkettenende in **75** nicht zwingend nötig zu sein schien. In Phosphatpuffer waren alle Prodrugs über 8 h stabil. Die Bestimmung einer Plasma- und Serumstabilität stellte sich als schwierig heraus, wobei hier eine starke Plasmaproteinbindung vermutet wurde. Stabilitätsmessungen von **73** im Zelllysats und mit Schweineleberesterase zeigten einen schnellen Abbau zu **76** an, was suggerierte, dass **73** und **74** "echte" Prodrugs mit intrazellulärer Freisetzung der Stammverbindung **76** und einer von **76** ausgehenden antibakteriellen Aktivität mittels Inhibition von *MraY* darstellen. Um diese Vermutungen zu bestätigen stehen jedoch noch weitere quantifizierbare Stabilitätsmessungen aus, die jedoch nicht mehr Teil dieser Arbeit waren.

Das Ziel im zweiten Teilprojekt der vorliegenden Dissertation war die stereoselektive und effiziente Synthese neuer aminoribosylierter Muraymycin-Analoga, dem (6'S)-konfigurierten

6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogen **89** und dem (6'*S*)-konfigurierten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogen **90**, um weitere Einblicke in die Rolle der Aminoribose und in die Signifikanz ihrer Position innerhalb des Moleküls zu

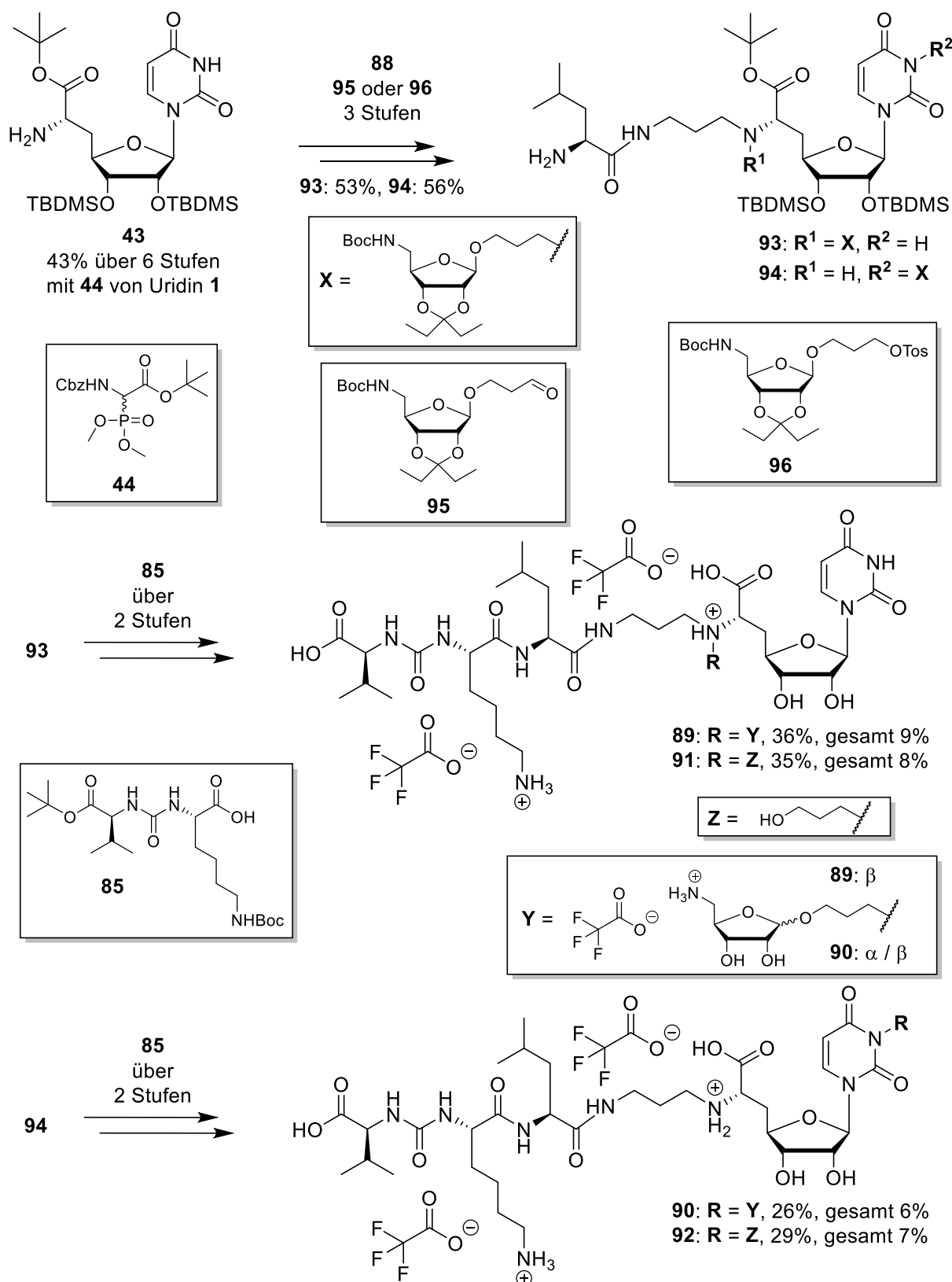


Abb. 5.2 Synthese der aminoribosylierten Muraymycin-Analoga **89** und **91** sowie der desaminoribosylierten Referenzverbindungen **90** und **92**.

erlangen.

Die Darstellung der Verbindungen gelang über 11 Stufen in einem stereokontrollierten Ansatz ausgehend von Uridin **1** (Abb. 5.2). In der Generierung der bereits bekannten Nucleosyl-Aminosäure **43**^[140] dienten wie bei den Prodrugs (siehe oben) eine Wittig-Horner-Reaktion^[143,144] und eine homogene asymmetrische Hydrierung^[149,150] als Schlüsselschritte (vgl. Kapitel 4.8.1.1, Abb. 4.25). Der verkürzte 6'-*N*-aminoribosylierte Vorläufer **93** konnte anschließend in zwei aufeinanderfolgenden reduktiven Aminierungen mit dem Aminoribose-abgeleiteten Aldehyd **95** und dem Leucin-abgeleiteten Aldehyd **88** (siehe Abb. 5.1) dargestellt werden, wobei die Reaktion mit Aldehyd **95** zuerst erfolgen musste (Abb. 5.2). Dieser wurde ausgehend von D-Ribose **103** über eine Glycosylierung und eine Ozonolyse als Schlüsselreaktionen dargestellt (vgl. Kapitel 4.4.1, Abb. 4.11). Für die verkürzte *N*3-aminoribosylierte Verbindung **94** wurde zuerst mit Aldehyd **88** reduktiv alkyliert und anschließend mit dem Aminoribose-abgeleiteten Tosylat **96**, welches durch Oxidation und Tosylierung aus dem Aldehyd **95** generiert werden konnte (vgl. Kapitel 4.4.2, Abb. 4.12), alkyliert (Abb. 5.2). Anschließend erfolgte für beide Verbindungen **93** und **94** eine Peptidkupplung^[132] mit dem Harnstoffdipeptid **85** (vgl. Kapitel 4.11.1, Abb. 4.60). Die abschließende globale saure Entschützung erwies sich auch hier als problematisch. In diesem Fall war die Exponiertheit der Aminoribose am Propyllinker und die damit einhergehende Säurelabilität der glycosidischen Bindung dafür verantwortlich. Die desaminoribosylierten Muraymycin-Analoga **91** und **92**, die nur noch den Propyllinker mit primärer Hydroxy-Funktion beinhalteten (Abb. 5.2, **Z**), konnten nach globaler saurer Entschützung mit 80% TFA in Wasser erhalten werden (11 Stufen, **91**: 8%, **92**: 7%) und wurden als Referenzverbindungen in der biologischen Evaluierung genutzt. Für die aminoribosylierten Muraymycin-Analoga **89** und **90** (Abb. 5.2, **Y**) konnte eine zweistufige Entschütungssequenz mit 80% TFA in Dichlormethan (36 h) und 10% TFA in Wasser (15 min) entwickelt werden, die unter Erhalt der glycosidischen Bindung zum (6'*S*)-konfigurierten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **89** (9% über 11 Stufen) und zum (6'*S*)-konfigurierten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **90** (6% über 11 Stufen) führte. Dabei wurde **90** als α/β -Anomerengemisch (49:51) erhalten, wobei die Anomerisierung nur unter den sauren Bedingungen der globalen Entschützung aufgetreten sein konnte.

Alle Zielverbindungen wurden als ihre TFA-Salze isoliert und anschließend biologisch evaluiert. Dabei wies nur die desaminoribosylierte Verbindung **91** eine inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegen *MraY* ($IC_{50} = 17 \pm 9 \mu M$, *MraY* aus *S. aureus*) auf. Trotz Literaturpräzedenz für an der Nucleobase modifizierte Muraymycine^[118] stehen die gemessenen Werte für die

Nucleobasen-modifizierten Analoga **90** und **92** im Einklang mit der 2016 von Lee und Mitarbeitern publizierten Cokristall-Struktur von *MraY* aus *Aquifex aeolicus* mit dem Inhibitor Muraymycin D2 **22**,^[105] da die Struktur des aktiven Zentrums eine sehr spezifische Uracil-Bindetasche aufweist. Dass auch die aminoribosylierte Verbindung **90** kein *MraY*-Inhibitor war, zeigte trotz der Tatsache, dass an anderen Positionen von synthetisch dargestellten Muraymycin-Analoga verschiedene Modifikationen von *MraY* toleriert werden,^[171,210] dass dies an der 6'-*N*-Position offensichtlich für große Reste nicht der Fall war. Kleinere Reste an der 6'-*N*-Position, wie bei Verbindung **91** scheinen die inhibitorische Aktivität nur geringfügig zu beeinträchtigen (vgl. IC_{50} (**76**) = $2.5 \pm 0.6 \mu\text{M}$, *MraY* aus *S. aureus*). Eine Möglichkeit zur alternativen Positionierung der Aminoribose über flexible Linker im Muraymycin ist somit nicht gegeben.

Das Ziel im dritten Teilprojekt der vorliegenden Dissertation war die stereoselektive und effiziente Darstellung des (5'*S*,6'*S*)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogs **97** sowie die Evaluierung der Aktivität in anschließenden biologischen Tests, um weitere Einblicke in die Rolle der Aminoribose an der nativen Position im Muraymycin-Gerüst zu erhalten. Dazu konnte zunächst eine Glycosylierungsstrategie mithilfe von Pentenylglycosiden^[169] anhand der synthetisch leichter zugänglichen (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** etabliert werden (Abb. 5.3), die erstmals eine Aminoribosylierung der 5'-Position von Verbindungen mit dem zugrunde liegenden Schutzgruppenmuster aus *tert*-Butylester und TBDMS-Ethern erlaubte. Verbindung **100** ließ sich ausgehend vom Uridin-5'-

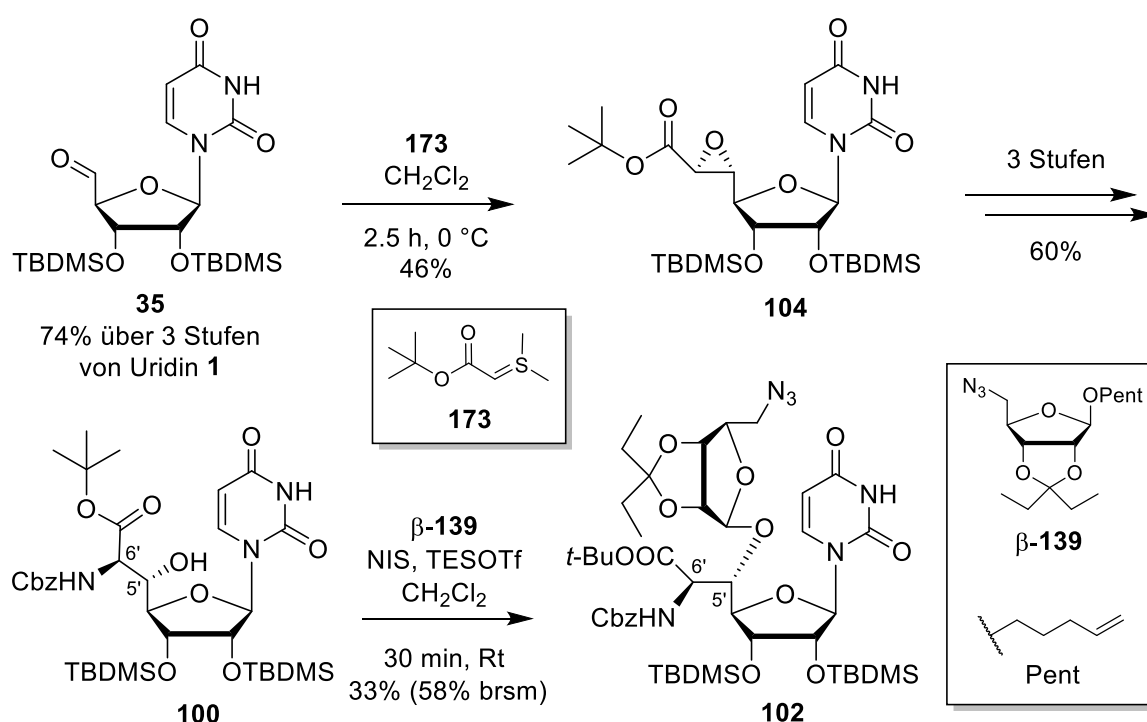


Abb. 5.3 Synthese der 5'-aminoribosylierten Nucleosyl-Aminosäure **102**.

Aldehyd **35** über 4 Stufen darstellen. In einer Schwefel-Ylid Reaktion^[134–137] wurde der Aldehyd **35** mit dem entsprechenden Schwefel-Ylid **173** aus dem Sulfonium-Salz **120** zum Epoxid **104** umgesetzt (Abb. 5.3),^[133] welches sich anschließend regioselektiv öffnen ließ (20% über 7 Stufen von Uridin **1**). Die anschließende Glycosylierung zur Verbindung **102** mit Pentenylglycosid β -**139** nach Bert Fraser-Reid^[169] gelang in moderaten Ausbeuten von 33% (58% brsm), wobei eine Aktivierung mit NIS und TESOTf erfolgte (Abb. 5.3). Für die Anwendung der Pentenylglycosid-Methode auf Ribosylierungen hatte es zuvor kaum Präzedenz gegeben. Das Pentenylglycosid β -**139** konnte ausgehend von D-Ribose in einer Glycosylierung mit 4-Penten-1-ol als Schlüsselschritt aufgebaut werden (vgl. Kapitel 4.5.4, Abb. 4.16).

Zuletzt sollte das aminoribosylierte Muraymycin-Analogon **97** ausgehend von Uridin **1** dargestellt werden (Abb. 5.4). Das Epoxid **34** wurde ausgehend vom Uridin-5'-Aldehyd **35** in einer Schwefel-Ylid Reaktion^[134–137] mit dem entsprechenden Sulfonium-Salz **36** dargestellt (vgl. Kapitel 4.8.3.1, Abb. 4.33).^[133] Die geschützte (5'S,6'S)-konfigurierte Nucleosyl-Aminosäure **33** wurde durch anschließende regioselektive Epoxid-Öffnung, gefolgt von einer Sequenz aus Substitutions- und Umschützungsreaktionen, erhalten (12% über 12 Stufen von Uridin **1**).^[132] Mithilfe der neu entwickelten Glycosylierungsmethode ließ sich die aminoribosylierte Verbindung **99** mit Pentenylglycosid β -**139** und NIS/TESOTf-Aktivierung in einer Ausbeute von 36% (58% brsm) darstellen (Abb. 5.4).

Nach Umwandlung des Azids der Aminoribose in ein Boc-geschütztes Amin **211** (vgl. Kapitel 4.12.3, Abb. 4.75) erfolgte die reduktive Aminierung mit dem Aldehyd **88** (vgl. Abb. 5.1) unter essigsäuren Bedingungen,^[127] wobei nicht wie ursprünglich geplant der verkürzte Vorläufer **212**, sondern das leicht modifizierte Hydroxylamin **214** resultierte (Abb. 5.4). Ursache hierfür könnte eine radikalisch induzierte Umlagerung, erzeugt durch aktivierte Palladium-Reste aus der zuvor erfolgten Cbz-Entschützung der Nucleosyl-Aminosäure, sein, sodass nach der Reaktion mit dem Aldehyd **88** keine Wasserabspaltung mit anschließender Reduktion, sondern eine Umlagerung der Hydroxy-Gruppe auf das 6'-N-Atom erfolgte. Dieses Hydroxylamin-Motiv blieb bis zum Abschluss der Synthese stabil, sodass nach Peptidkupplung^[132] mit dem Harnstoffdipeptid **85** (vgl. Kapitel 4.12.3, Abb. 4.78) und globaler saurer Entschützung mit 80% TFA in Wasser^[127] das (5'S,6'S)-konfigurierte 5'-aminoribosylierte Muraymycin-Analogon **213** generiert werden konnte (0.6% über 20 Stufen, Abb. 5.4).

Das als TFA-Salz dargestellte aminoribosylierte Muraymycin-Analogon wurde anschließend biologisch evaluiert. Dabei zeigte sich, dass die 5'-Aminoribose offensichtlich zu einer

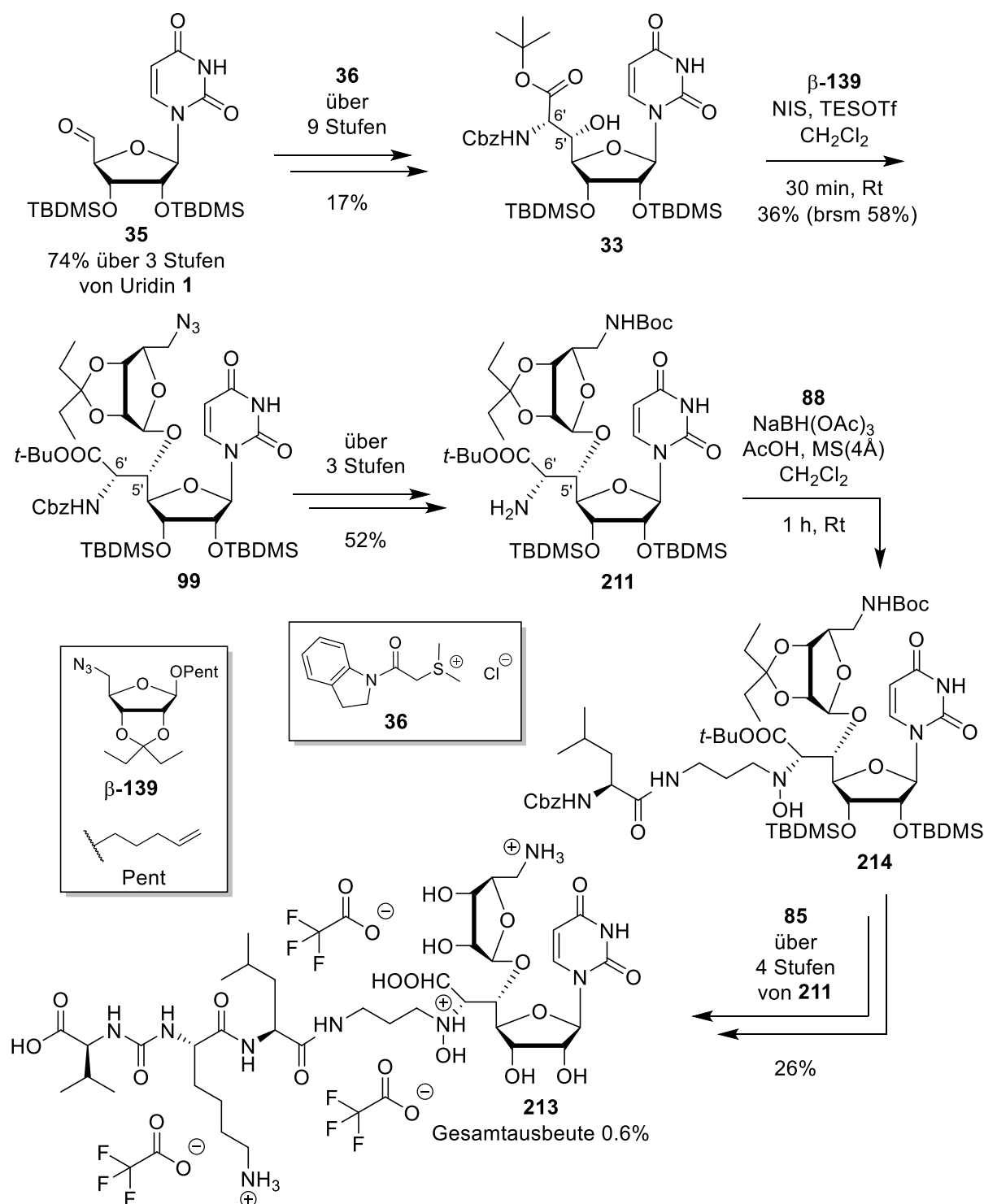


Abb. 5.4 Synthese des (5'S,6'S)-5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons **213**.

deutlich höheren inhibitorischen *in vitro*-Aktivität gegen *MraY* ($\text{IC}_{50} = 12 \pm 2 \text{ nM}$, *MraY* aus *S. aureus*) im Vergleich zur Referenzverbindung ohne Aminoribose (vgl. IC_{50} (**76**) = $2.5 \pm 0.6 \text{ }\mu\text{M}$, *MraY* aus *S. aureus*) beitrug. Die Aminoribose scheint also eine Schlüsselinteraktion mit *MraY* einzugehen. Mit **213** konnte auch eine gegen *E. coli* antibakteriell aktive Verbindung dargestellt werden (MIC_{95} (*E. coli* ΔtolC) = $7\text{--}10 \text{ }\mu\text{g/mL}$, MIC (*E. coli* DH5 α) = $17.5 \text{ }\mu\text{g/mL}$). Im Vergleich dazu war beispielsweise das Muraymycin

D2 **22** inaktiv.^[171] Es sollte in der biologischen Evaluierung jedoch bedacht werden, dass sich das generierte Hydroxylamin **213** neben der Aminoribose auch zusätzlich durch das 6'-*N*-Hydroxy-Motiv vom 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **76** unterscheidet. Letztendlich konnte mit dem Hydroxylamin **213** ein neuer bioaktiver Strukturtyp gefunden werden, für den der Einfluss der zusätzlichen Hydroxy-Gruppe noch geklärt werden muss (vgl. Kapitel 6). Zusätzlich könnte untersucht werden, ob die Aktivität aus einer starken Target-Interaktion resultiert und somit schon geringe Mengen, welche die Zellmembran passieren, für die hohe Aktivität ausreichen, oder ob eine verbesserte Diffusion durch die Membran oder ein aktiver Transport stattfindet, was durch die Aminoribose im Molekül durchaus denkbar wäre (vgl. Kapitel 6). Im Hinblick auf das 5'-Desoxy-Konzept welches auf den relativ geringen Unterschieden in den Aktivitäten der Muraymycine der A-Reihe A1 (mit Aminoribose) und A5 (ohne Aminoribose) (vgl. Kapitel 2.5.1) beruht und sich durch eine wesentlich einfachere synthetische Zugänglichkeit auszeichnet, bleibt dieses Konzept trotz der gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der Aminoribose hochinteressant für die Optimierung von Muraymycin-Analoga bei geringer Anzahl von Synthesestufen, wie es auch in vorliegender Arbeit bei den Muraymycin-Prodrugs sowie bei den propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga angewendet wurde.

6. Ausblick

In nachfolgenden Arbeiten soll der Fokus zunächst auf der Synthese der ursprünglichen Zielverbindung, dem (5'*S*,6'*S*)-aminoribosylierten Muraymycin-Analogen **97** liegen um dieses mit dem in dieser Arbeit dargestellten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogen **213** vor dem Hintergrund der zusätzlichen 6'-*N*-Hydroxy-Funktion zu vergleichen. Eine Darstellung von Verbindung **97** (Abb. 6.1) sollte mit der erarbeiteten Strategie möglich sein, nur müsste vor der reduktiven Aminierung darauf geachtet werden, dass das einzusetzende Edukt keinesfalls mit Palladium-Resten aus der vorherigen Reaktion kontaminiert ist. Dies wäre beispielsweise durch eine säulenchromatographische Reinigung des Produktes der *N*-Cbz-Abspaltung möglich.

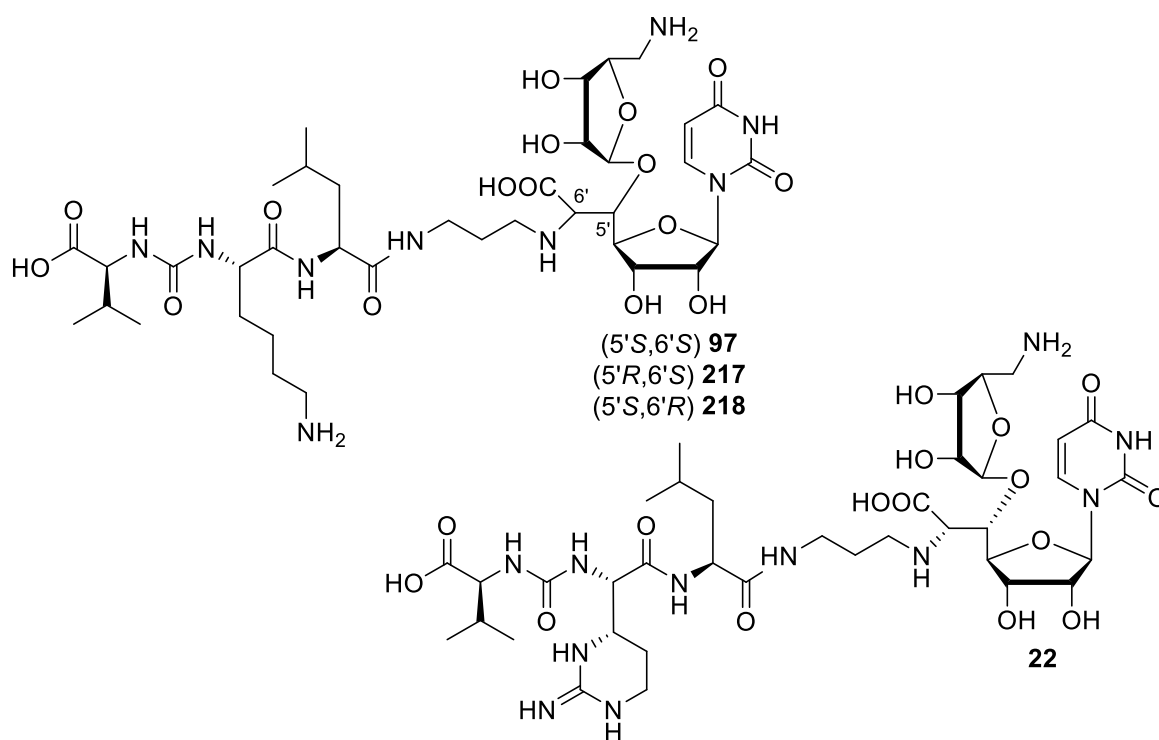


Abb. 6.1 Die aminoribosylierten Muraymycin-Analoga **97**, **217** und **218** sowie Muraymycin D2 **22**.

Weitere interessante Muraymycin-Analoga aus dieser Reihe wären die (5'*R*,6'*S*)-5'-aminoribosylierte Verbindung **217** sowie die (5'*S*,6'*R*)-5'-aminoribosylierte Verbindung **218** (Abb. 6.1). Für letztere waren schon Vorarbeiten in der vorliegenden Arbeit im Zuge der Etablierung der 5'-Ribosylierung geleistet worden. Diese Verbindungen sollten sich von der ursprünglich darzustellenden Zielverbindung **97** nur durch die unterschiedliche Stereochemie an der aminoribosylierten 5'-Position und der 6'-Position unterscheiden. Vor dem Hintergrund der starken konformationellen Flexibilität des zu inhibierenden Enzyms MraY^[105] wären Einblicke in die biologische Aktivität solcher Verbindungen äußerst interessant. Zusätzlich

könnte untersucht werden ob die antibakterielle Aktivität von **213** durch eine verbesserte Diffusion oder einen aktiven Transport durch die Membran erzeugt wird, was aufgrund der Aminoribose im Molekül nicht unwahrscheinlich wäre. Denkbar wäre auch, dass das 6'-*N*-Hydroxy-Motiv und eine dadurch bedingte Änderung des pK_a -Wertes der Verbindung **213** bei der passiven Diffusion eine Rolle spielen könnte. Solche Untersuchungen wären anhand eines 2016 berichteten Modellsystems zur passiven Diffusion durch die innere Membran Gram-negativer Bakterienzellen möglich, wobei ein aktiver Transport ausgeschlossen ist.^[213] Ein Vergleich der oben aufgeführten Verbindungen anhand solcher Messungen würde somit klären ob ein aktiver Transport oder eine passive Diffusion vorliegt, sowie Aufschluss über den Einfluss der Aminoribose und des 6'-*N*-Hydroxy-Motives in **213** in Bezug auf eine passive Diffusion durch die Zellmembran geben.

Darüber hinaus wäre dann natürlich auch die erste stereokontrollierte Darstellung des Muraymycins D2 **22** denkbar, bei dem anstelle von L-Lysin die nicht-proteinogene Aminosäure Epicapreomycinidin eingebaut ist (Abb. 6.1), wobei die Synthese eines entsprechenden Harnstoffdipeptids für dessen Einführung in der Arbeitsgruppe Ducho bereits gelungen war.^[132] Auf dem Weg zu weiteren hochaktiven Muraymycin-Analoga wäre auch die Einführung von L-Hydroxyleucin anstelle von L-Leucin denkbar. Auch hierfür wurde bereits eine Strategie erarbeitet.^[141]

Da die biologische Evaluierung der am *N3* der Nucleobase über einen Propylrest amininoribosylierten Muraymycin-Analoga **90** und **92** nur sehr geringe inhibitorische Aktivität zeigte, soll in Zukunft die Arbeit an *N3*-modifizierten Muraymycin-Analoga trotz Literaturpräzedenz^[118] eingestellt werden. Vor dem Hintergrund, dass für das desaminoribosylierte Analogon **91** eine inhibitorische Aktivität festgestellt werden konnte, für das aminoribosylierte Analogon **89** jedoch nicht, da ein zu großer Rest an dieser Position von *MraY* anscheinend nicht toleriert wird, wäre es denkbar, den generellen Einfluss von

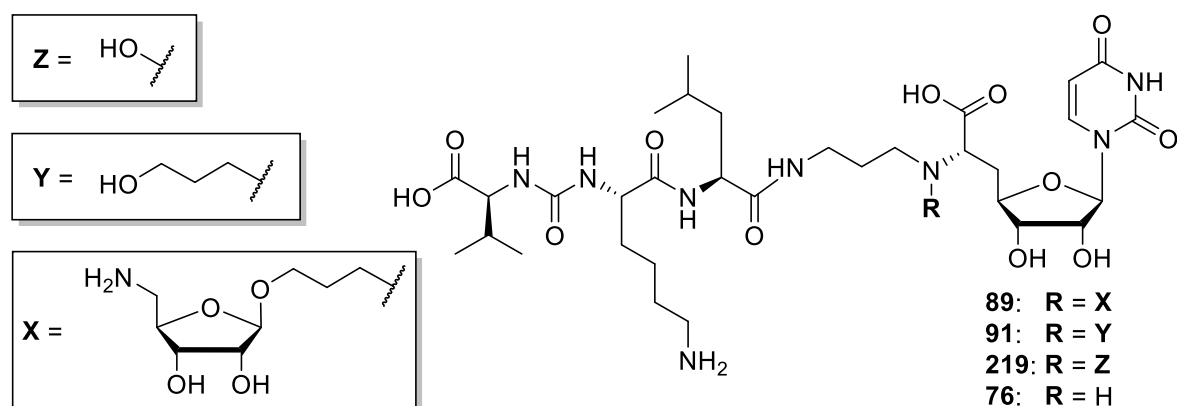


Abb. 6.2 Die Reihe 6'-*N*-modifizierter 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga.

Substituenten in 6'-*N*-Position von Muraymycinen zu klären. Dabei wäre ein Muraymycin-Analogon **219** mit einer Hydroxy-Gruppe am 6'-*N* zur Vervollständigung der Reihe interessant (Abb. 6.2), um diese Verbindungen mit der Referenzverbindung **76** zu vergleichen. Eine Darstellung könnte sich durch eine radikalisch induzierte Hydroxy-Gruppen-Umlagerung durchführen lassen, wie sie schon zufällig in der Synthese des 5'-aminoribosylierten Analogons **213** aufgetreten ist.

Für die Muraymycin-Prodrugs muss zunächst die biologische Evaluierung abgeschlossen werden. Dabei sollen mit entsprechender Kalibration quantifizierbare und zeitlich aufgelöste Messungen zur Stabilität im intrazellulären und extrazellulären Medium stattfinden um weitere Einblicke in die Spaltungskinetik dieser Verbindungen zu erlangen. Zusätzlich wäre auch hier der Einsatz des 2016 publizierten Assays zur passiven Diffusion durch die innere Membran Gram-negativer Bakterien anhand eines Modellsystems möglich, um weitere Einblicke in die Zellgängigkeit der Muraymycin-Prodrugs zu erlangen.^[213] Der im Zuge dieser Arbeit etablierte modular gestaltete Syntheseansatz kann in folgenden Arbeiten eine große Bandbreite verschiedener potentieller Prodrugs zugänglich machen. Da in dieser ersten konzeptionellen Studie der Nachweis erbracht werden konnte, dass Muraymycin-Prodrugs je nach Positionierung der POM-Maskierung eine verbesserte Zellgängigkeit aufweisen (wobei dafür eine POM-Gruppe an der Carboxyl-Funktion des Nucleosyl-Aminosäure-Motives

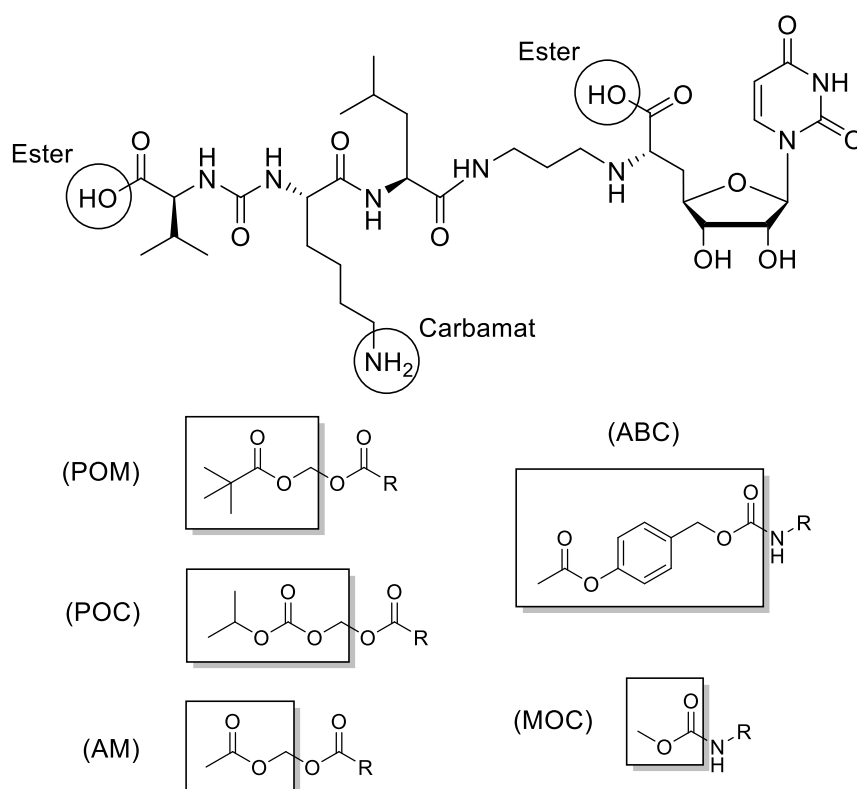


Abb. 6.3 Konzeptionelle Erweiterung des Prodrug-Konzeptes auf unterschiedliche Maskierungsgruppen.

unabdingbar scheint) wäre eine Veränderung des Maskierungsgruppenmusters möglich, um weitere Einblicke in die antibiotische Aktivität solcher Verbindungen zu erlangen. Als Esterase-spaltbare Maskierungen würden sich beispielsweise *iso*-Propyloxycarbonyloxymethylester (POC)^[159] oder auch Acetyloxymethylester (AM) anbieten (Abb. 6.3). Letzterer wäre aber aufgrund seiner mäßigen Stabilität im biologischen Medium eventuell weniger geeignet. Weiterhin bieten sich für primäre Amino-Funktionen verschiedene Möglichkeiten wie Amide oder alternative Methoden wie Lacton- oder Redox-Systeme an. Am Sinnvollsten erscheint jedoch die Maskierung in Form von Esterase-spaltbaren Carbamaten.^[160] Denkbar wäre hier eine 4-Acetoxybenzyloxycarbonyl-(ABC) oder eine Methyloxycarbonyl-(MOC)-Maskierung (Abb. 6.3). Die Modifikationen und entsprechend unterschiedliche Kombinationen der einzelnen Maskierungsgruppen sollten sich ohne zusätzlichen Aufwand in der Synthese über entsprechende Harnstoffdipeptide und Phosphonate in das Molekül einbringen lassen. Dies sollte zunächst als Weiterführung dieser konzeptionellen Studie erneut anhand der vereinfachten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga erprobt werden. Darüber hinaus wäre jedoch auch eine Übertragung auf komplexere aminoribosylierte Muraymycin-Analoga möglich. Mithilfe der dargestellten Verbindungen könnte die Rolle der Zellgängigkeit bei der Aufnahme der Muraymycin-Analoga weiter erforscht werden.

7. Experimentaltteil

7.1 Allgemeines

7.1.1 Allgemeine Arbeitsweisen

Alle Reaktionen wurden, wenn nicht abweichend vermerkt, unter Inertgasatmosphäre mithilfe der Schlenktechnik durchgeführt. Alle Glasgeräte wurden vor der Benutzung unter Vakuum ausgeheizt. Als Inertgas wurde an Phosphor(V)-oxid und Orangegel getrocknetes Argongas oder Stickstoffgas verwendet. Zur Reaktionsführung bei tiefen Temperaturen ($T \leq 0\text{ °C}$) wurden geeignete Kältemischungen (Eis in Wasser, Eis und Natriumchlorid in Wasser, flüssiger Stickstoff in Aceton oder Trockeneis in Aceton) oder ein Kryostat eingesetzt.

7.1.2 Edukte und Reagenzien

Alle Edukte und Reagenzien wurden, soweit nicht anders angegeben, von den Firmen *ABCR*, *Acros Organics*, *Alfa Aesar*, *Fluka*, *GL Biochem*, *Honeywell*, *Iris Biotech*, *Merck*, *Roth*, *Sigma Aldrich* und *VWR* in Synthesqualität bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet. Nucleoside wurden bei der Firma *Chempur* erworben. Rhodium-haltige Katalysatoren mit chiralen Liganden wurden von der Firma *Strem* bezogen. Die Reagenzien und Vorstufen **120**, **36**, **121**, **124** und **85** wurden durch Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe Ducho bereitgestellt.

7.1.3 Lösungsmittel

Die folgenden Lösungsmittel wurden in technischer Qualität bezogen und vor ihrer Verwendung für Reaktionen ohne Inertgasbedingungen und zur Chromatographie folgendermaßen gereinigt.

Dichlormethan (DCM): DCM wurde destilliert.

Diethylether (Et₂O): Et₂O wurde über Kaliumhydroxid getrocknet und destilliert.

Ethylacetat (EtOAc): EtOAc wurde destilliert.

Petrolether 40/60 (PE): PE (Siedebereich 40-60 °C) wurde destilliert.

Iso-Hexan: *iso*-Hexan wurde destilliert.

n-Hexan: *n*-Hexan wurde destilliert.

n-Pentan: *n*-Pentan wurde destilliert.

Andere Lösungsmittel wurden mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse“ bezogen und in der kommerziell erhältlichen Form ohne weitere Reinigung eingesetzt.

7.1.4 Absolute Lösungsmittel

Alle Reaktionen unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss wurden mit absoluten Lösungsmitteln durchgeführt. Für die Trocknung der Lösungsmittel mit der MB SPS 800 Trocknungsanlage der Firma *MBRAUN* wurden Lösungsmittel des Reinheitsgrades "HPLC grade" verwendet. Für über Molekularsieb getrocknete Lösungsmittel wurde der Reinheitsgrad "zur Analyse" verwendet. Für am Rückfluss gereinigte und getrocknete Lösungsmittel wurde der Reinheitsgrad "technische Qualität" genutzt. Die Reinigung und Trocknung erfolgte entsprechend der nachfolgenden Vorgehensweisen.

Acetonitril (MeCN): MeCN wurde mittels einer MB SPS 800 der Firma *MBRAUN* getrocknet und über Molekularsieb (3 Å) aufbewahrt.

Benzol: Benzol wurde entgast und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Dichlormethan (DCM): DCM wurde mehrere Stunden über Calciumhydrid am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert oder mittels einer MB SPS 800 der Firma *MBRAUN* getrocknet und über Molekularsieb (3 Å) aufbewahrt.

Dimethylsulfoxid (DMSO): DMSO (Reinheitsgrad: "zur Analyse") wurde entgast und über Molekularsieb (3 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Ethylacetat (EtOAc): EtOAc wurde entgast und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Iso-Propanol (i-PrOH): *I*-PrOH wurde mehrere Tage über Calciumsulfat-Hemihydrat getrocknet und über Molekularsieb (3 Å) aufbewahrt.

Methanol (MeOH): MeOH wurde entgast und über Molekularsieb (3 Å) getrocknet und aufbewahrt.

N,N-Dimethylformamid (DMF): DMF wurde entgast und mittels einer MB SPS 800 der Firma *MBRAUN* getrocknet und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

3-Pentanon: 3-Pentanon wurde entgast und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Pyridin: Pyridin wurde mehrere Tage über Calciumhydrid am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

tert-Butanol: *tert*-Butanol wurde entgast und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Tetrahydrofuran (THF): THF wurde in HPLC-Qualität bezogen und mittels einer MB SPS 800 der Firma *MBRAUN* getrocknet und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

Toluol: Toluol wurde in HPLC-Qualität bezogen und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Triethylamin (NEt₃): NEt₃ (Reinheitsgrad: "zur Analyse") wurde entgast und über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

7.1.5 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC): Es wurden kieselgelbeschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (VWR DC Kieselgel 60 F₂₅₄) verwendet. Die *R_f*-Werte wurden bei Kammersättigung mit einer ungefähren Laufstrecke von 4 cm ermittelt. UV-aktive Verbindungen wurden mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm detektiert. Weiter wurden die DC-Karten mit einer Vanillin-Schwefelsäure-Lösung (Vanillin (4 g), konz. Schwefelsäure (25 mL), Eisessig (80 mL) in Methanol (680 mL)), Ninhydrin-Lösung (Ninhydrin (0.3 mL), Essigsäure (3 mL) in Butanol (100 mL)) oder Kaliumpermanganat-Lösung (Kaliumpermanganat (1 mg), Kaliumcarbonat (6 g), NaOH (1.5 mL, 5%ig) in Wasser (100 mL)) als Färbereagenzien angefärbt.

Säulenchromatographie: Für die säulenchromatographischen Trennungen wurde Kieselgel der Firma VWR (Kieselgel Si 60, Korngröße: 40-63 µm) verwendet.

Analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Analytische HPLC): Analytische LC-MS-Messungen zur Methodenentwicklung für semipräparative HPÖC-Trennungen und zur Reaktionskontrolle erfolgten an einem *Thermo Scientific* Spectra System bestehend aus einem SN 4000 Controller, einem SCM 1000 Mischer, einem P4000 Pumpsystem, einem AS3000 Autosampler, einem UV2000 Detektor, sowie einem Surveyor MSQ Plus ESI-Massenspektrometer der Firma *Finnigan*. Als Laufmittel wurden ausschließlich Mischungen von bidest. Wasser und Acetonitril oder bidest. Wasser und Methanol des Reinheitsgrades „HPLC grade“ (*Sigma Aldrich* oder VWR) verwendet. Falls erforderlich wurde auch mit Trifluoressigsäure (TFA) des Reinheitsgrades „zur Peptidsynthese“ als Additiv gearbeitet.

Semipräparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Semipräparative HPLC):

Semipräparative HPLC-Trennungen erfolgten an einer von *Agilent Technologies* vertriebenen 1200 Series. Die verwendete Säule des Typs LichroCart® Purospher® RP18e (5 µm, 10 x 250 mm) wurde von der Firma VWR bezogen. Als Laufmittel wurden ausschließlich Mischungen von bidest. Wasser und Acetonitril des Reinheitsgrades „HPLC grade“ (*Sigma Aldrich* oder VWR) verwendet. Falls nötig wurde auch mit Trifluoressigsäure (TFA) des Reinheitsgrades „zur Peptidsynthese“ als Additiv gearbeitet. Die erhaltenen Retentionszeiten (t_R) [min] sind ohne weitere Bereinigung der Totzeit angegeben. Die einzelnen Methoden sind detailliert im Anhang beschrieben. Alle Substanzen, die für eine spätere biologische Testung vorgesehen sind, wurden mittels semipräparativer Umkehrphasen-HPLC gereinigt.

7.1.6 Spektroskopie und Spektrometrie

Kernresonanzspektroskopie (NMR): Die NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Departments Chemie der Universität Paderborn an folgenden Geräten der Firma *Bruker* aufgenommen: Avance-500 (^1H -NMR: 500 MHz, ^{13}C -NMR: 126 MHz, ^{31}P -NMR: 202 MHz), Avance-300 (^{19}F -NMR: 282 MHz). Weitere NMR-Spektren wurden in den NMR-Abteilungen der Fachrichtung Pharmazie, sowie der Fachrichtung Chemie der Universität des Saarlandes an folgenden Geräten der Firma *Bruker* aufgenommen: Avance-500 Ultra Shield™ mit einem B-ACS 60 Autosampler, Avance-DRX-500, Avance-III-500 mit TCI Cryo-Probenkopf (^1H -NMR: 500 MHz, ^{13}C -NMR: 126 MHz), sowie an einem Avance-II-400 (^{31}P -NMR: 162 MHz, ^{19}F -NMR: 376 MHz). Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der δ -Skala in ppm angegeben. Als interner Standard für alle NMR-Spektren diente das jeweils verwendete Lösungsmittel. Um eine einwandfreie Zuordnung der einzelnen Signale zu den entsprechenden Kernen zu gewährleisten, wurden zusätzlich zu den oben genannten eindimensionalen Spektren in vielen Fällen noch ^1H , ^1H - und ^1H , ^{13}C -Korrelationsspektren (^1H , ^1H -COSY, ^1H , ^{13}C -HSQC und ^1H , ^{13}C -HMBC) gemessen. Zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale der ^1H -NMR-Spektren werden die folgenden Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), quin (Quintett), m (Multipllett) sowie deren Kombinationen (z.B. ddd (Dublett vom Dublett vom Dublett)). Die ^{13}C -NMR-Spektren wurden ^1H -Breitband-entkoppelt aufgenommen, weshalb das Singulett als Signalform nicht mehr explizit erwähnt wird. Alle skalaren Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) angegeben, wobei die koppelnden Kerne nicht konkretisiert wurden, wenn es sich um ^1H , ^1H -Korrelationen handelte. Die Kennzeichnung

diastereotoper Protonen oder Kohlenstoffatome erfolgte durch den tiefgestellten Index „a“ für das Hochfeld-verschobene und „b“ für das Tieffeld-verschobene Signal. Alle NMR-Spektren wurden, sofern nicht anders erwähnt, bei Raumtemperatur gemessen.

Massenspektrometrie (MS): Als Ionisierungsmethode fand ausschließlich die Technik der Elektrosprayionisation (ESI) Anwendung. Die ESI-Massenspektren wurden in der Abteilung für Massenspektrometrie des Departments Chemie der Universität Paderborn an einem Quadrupol-Flugzeit-Massenspektrometer der Firma *synapt 2G Waters* aufgenommen. Des Weiteren wurden ESI-Massenspektren in der Abteilung für zentrale Analytik und Massenspektrometrie des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen an einem Ion-Trap-Massenspektrometer LCQ der Firma *Finnigan* und einem Time-of-flight-(TOF)-Massenspektrometer micrOTOF der Firma *Bruker* aufgenommen. An letzterem wurden auch die Spektren der hochauflösenden ESI-Massenspektrometrie (ESI-HRMS) gemessen. ESI-HR-Massenspektren wurden zudem an einem 7 Tesla-Fouriertransformations-Ionencyclotronresonanz-(FTICR)-Massenspektrometer APEX IV der Firma *Bruker* aufgenommen. Im Fachbereich Pharmazie der Universität des Saarlandes wurden ESI-Massenspektren an einer *Thermo Scientific* Spectra System bestehend aus einem SN 4000 Controller, einem SCM 1000 Mischer, einem P4000 Pumpsystem, einem AS3000 Autosampler, einem UV2000 Detektor, sowie einem Surveyor MSQ Plus ESI-Massenspektrometer der Firma *Finnigan* aufgenommen. Die Spektren der hochauflösenden ESI-Massenspektrometrie (ESI-HRMS) wurden am Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) an einem Time-of-flight-(TOF)-Massenspektrometer maXis 4G der Firma *Bruker* aufgenommen. Weitere hochaufgelöste Massen (ESI-HRMS) wurden im Fachbereich Chemie der Universität Hamburg an einem Time-of-flight-(TOF)-Massenspektrometer MicroTOF-Q II der Firma *Bruker* aufgenommen. Die LC-MS/MS-Analytik zu den Stabilitätsmessungen der Muraymycin-Prodrugs wurde am Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) an einer Accela UHPLC mit einem TSQ Quantum Access Max und einem PDA Detektor der Firma *Thermo Scientific* sowie am Pharmakologischen Institut der Universität des Saarlandes in Homburg an einer Dionex UltiMate 3000 RS UHPLC mit einem TF Q-Exactive Plus der Firma *Thermo Fisher Scientific* durchgeführt. Sowohl für die ESI-Massenspektren als auch für ESI-HR-Massenspektren werden jeweils nur die Peaks mit der höchsten Intensität aufgeführt. Das Verhältnis von Masse m durch Ladung z (m/z) ist jeweils in der Einheit Th [$\text{Th} = \text{u/e}$] angegeben, wobei gilt $z = z' \cdot e$ mit der Elementarladung e und deren Anzahl z' .

Infrarotspektroskopie (IR): IR-Spektren wurden nur von Reinsubstanzen aufgenommen. IR-Spektren wurden an einem Fouriertransformations-Infrarot-(FTIR)-Spektrometer Vector 22 der Firma *Bruker* an einem Fouriertransformations-Infrarot-(FTIR)-Spektrometer FT/IR-4100 der Firma *Jasco* mit einer integrierten GladiATR[®] ATR-(Abgeschwächte Totalreflexion, Attenuated Transmission Reflection)-Einheit der Firma *PIKE Technologies* aufgenommen. Weiterhin wurden IR-Spektren an einem Fouriertransformations-Infrarot-(FTIR)-Spektrometer Vertex 70 der Firma *Bruker* mit einer integrierten PlatinumATR[®] Einheit der Firma *Bruker* und an einem Fouriertransformations-Infrarot-(FTIR)-Spektrometer ALPHA der Firma *Bruker* mit einer integrierten PlatinumATR[®] Einheit der Firma *Bruker* gemessen. Angegeben sind jeweils die zugehörigen Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ in cm^{-1} zu den neun bis 12 Banden mit den stärksten Absorptionsintensitäten.

Ultraviolett/VIS-Spektroskopie (UV/VIS): UV/VIS-Spektren wurden nur von Reinsubstanzen aufgenommen. UV/VIS-Spektren in organischen Lösungsmitteln wurden mithilfe eines Lambda-2-Modells der Firma *Perkin-Elmer* oder eines V-630 Spectrophotometers der Firma *Jasco* aufgenommen. UV/VIS-Spektren von wässrigen Lösungen wurden mithilfe eines NanoDrop 2000c Spectrophotometers der Firma *Thermo Fisher Scientific* gemessen. Weitere UV-Spektren wurden mithilfe eines Cary Series 100 UV/VIS Spectrophotometers der Firma *Agilent Technologies* aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden bidest. Wasser, Acetonitril (Reinheitsgrad: „HPLC-grade“) oder Methanol (Reinheitsgrad: „HPLC-grade“) verwendet, wobei jeweils ungefähr 0.1 mg der zu analysierenden Substanz in 10 mL des Lösungsmittels gelöst wurden. Alle UV/VIS-Spektren wurden in einem Wellenlängenbereich $\Delta\lambda$ von 800 nm bis 200 nm gemessen. Aufgeführt sind jeweils die Wellenlängen der Absorptionsmaxima λ_{max} in nm.

Polarimetrie: Die Drehwerte der reinen, optisch aktiven Verbindungen wurden mithilfe eines Polarimeters Modell 241 der Firma *Perkin-Elmer* aufgenommen. Weitere Drehwerte wurden mit einem Polarimeter der Firma *Krüss Optronic Germany* gemessen. Als Lösungsmittel wurden bidest. Wasser, Chloroform (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) oder Methanol (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) verwendet. Die angegebenen Konzentrationen c sind auf die Einheit g/dL bezogen. Alle Drehwerte wurden bei 20 °C mit einer Natriumdampflampe (D-Linie: $\lambda = 589 \text{ nm}$) gemessen und sind als spezifische Drehwerte α [$^{\circ}\cdot\text{mL/g}\cdot\text{dm}$] angegeben.

7.1.7 Geräte

Kryostat: Für Arbeiten im Tieftemperaturbereich, die über einen längeren Zeitraum das Einhalten einer konstanten Reaktionstemperatur erforderten, wurde ein Kryostat der Firma *Julabo* (FT902) verwendet.

Gefriertrocknungs-Anlage: Die Gefriertrocknung von wässrigen oder wasserhaltigen Lösungen wurde an einer Gefriertrocknungs-Anlage Alpha 2-4 LD Plus der Firma *Christ* durchgeführt.

Schmelzpunktbestimmungsapparatur: Schmelzpunkte T_m wurden mithilfe einer Schmelzpunktbestimmungsapparatur nach Dr. Tottoli der Firma *Büchi* bestimmt. Weitere Schmelzpunkte wurden mithilfe einer Stuart[®] melting point SMP3 der Firma *Barloworld Scientific* gemessen. Alle Schmelzpunkte wurden in °C angegeben und sind nicht korrigiert.

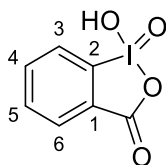
Ozongenerator: Ozonolyse-Reaktionen wurden an einem Ozongenerator 500 der Firma *Fischer Technology* durchgeführt.

7.2 Praktische Arbeiten

7.2.1 Synthese von Reagenzien und Bausteinen

7.2.1.1 Synthese von Reagenzien

Synthese von 2-Iodoxybenzoesäure (IBX) **105**^[178]



105

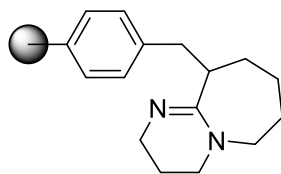
Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine auf 60 °C erwärmte Lösung von Kaliumbromat (25.0 g, 150 mmol) in wässriger Schwefelsäure (250 mL, 2 M) wurde über 5 min portionsweise mit 2-Iodbenzoesäure (25.0 g, 100 mmol) versetzt und für 2 h bei 65 °C gerührt. Die entstehenden Bromdämpfe wurden mit ges. wässriger Natriumthiosulfatlösung in zwei Waschflaschen reduziert. Es wurde auf 0 °C gekühlt und die resultierende Suspension filtriert. Der farblose Rückstand wurde mit auf 0 °C gekühltem Wasser (3 x 50 mL), mit Ethanol (2 x 50 mL), erneut mit auf 0 °C gekühltem Wasser (2 x 50 mL) und Aceton (50 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde mehrere Tage im Vakuum getrocknet. Aufgrund schlechter Löslichkeit wurde eine NMR-spektroskopische Charakterisierung als ausreichend befunden.

Ausbeute (105): 26.3 g (93.9 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.84 (ddd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 7.4 Hz, *J* = 1.0 Hz, 1 H, 5-H), 8.00 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 7.4 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1 H, 4-H), 8.03 (dd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1 H, 6-H), 8.15 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.3 Hz, 3-H).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆): δ = 124.96 (C-3), 130.05 (C-6), 131.44 (C-1), 132.91 (C-5), 133.33 (C-4), 146.57 (C-2), 167.44 (COO).

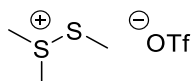
Synthese von Polymer-Supported 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (PS-DBU) 108^[179]

**108**

Zu einer auf -78 °C gekühlten Lösung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) (1.49 mL, 10.0 mmol) in abs. Tetrahydrofuran (18 ml) wurde über 1 h *n*-Butyllithium (3.84 mL, 9.60 mmol, 2.5 M in *n*-Hexan) getropft und weitere 1.5 h bei -78 °C gerührt. Zur resultierenden gelben Lösung wurde bei -78 °C über 30 min portionsweise Merrifield-Harz (2.12 g, 6.35 mmol, 2.8-3.2 mmol Cl/g) gegeben. Es wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 2.5 d bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich die dunkelrote Suspension langsam entfärbte. Zur gelben Suspension wurde Methanol (6 mL) gegeben, filtriert und der Rückstand mit THF/MeOH (1:1, 100 mL), MeOH (100 mL), MeOH/H₂O (1:1, 100 mL), Aceton (100 mL) und THF (100 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde für 8 h bei 70 °C am Vakuum getrocknet und die Beladung mit Säure-Base-Titration mit dem Indikator Bromthymolblau zu 2.15 mmol DBU/g bestimmt. Auf eine weiterführende Charakterisierung wurde verzichtet.

Ausbeute (108): 2.60 g (2.15 mmol DBU/g) eines gelben Feststoffes.

Synthese von Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat (DMTST) 109^[180]

**109**

Zu einer Lösung von Dimethyldisulfid (94.0 mL, 100 mg, 1.06 mmol) in abs. Dichlormethan (2.5 mL) wurde eine Lösung von Methyltrifluormethansulfonat (116 mL, 174 mg 1.06 mmol) in abs. Dichlormethan (2.5 mL) gegeben, 48 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Die Zielverbindung kristallisierte bei der Zugabe von Diethylether (15 mL) aus und wurde abfiltriert. Aufgrund der generellen Instabilität und des niedrigen Schmelzpunktes wurde das DMTST nur ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht, immer frisch dargestellt und maximal eine Woche bei -26 °C gelagert.

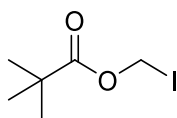
Ausbeute (109): 274 mg (1.06 mmol, quant.) gräulich brauner Kristalle.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 2.92 (s, 3 H, SCH_3), 3.27 (s, 6 H, $\text{S}(\text{CH}_3)_2$).

Schmelzpunkt: T_m = 26-28 °C.

7.2.1.2 Synthese von Bausteinen

Synthese von Pivaloyloxymethyljodid (POM-I) **112**^[181]



112

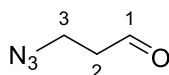
Die Reaktion wurde unter Lichtausschluss durchgeführt, um einen Zerfall der Verbindung **112** zu vermeiden. Zu einer Lösung von Natriumjodid (6.00 g, 40.0 mmol) in abs. Acetonitril (30 mL) wurde Pivaloyloxymethylchlorid (POM-Cl) **111** (5.96 g, 5.70 mL, 40.0 mmol) getropft und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde über eine Destillationskolonne bei 85 °C entfernt und das Produkt wurde durch Vakuumrektifikation von Salzen befreit. (Sdp: 80-90 °C im Ölpumpenvakuum). Das Produkt wurde unter Lichtausschluss und Inertgas bei -26 °C gelagert. Aufgrund des schnellen Zerfalls wurde nach NMR-spektroskopischen Untersuchungen, mit denen **112** eindeutig nachgewiesen werden konnte, auf eine weiterführende Analytik verzichtet.

Ausbeute (112): 6.06 g (25.0 mmol, 63%) einer farblosen Flüssigkeit.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.19 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3$), 5.93 (s, 2 H, CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = 27.00 ($\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 31.78 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 39.54 (CH_2), 176.77 (C=O).

Synthese von 3-Azidopropanal **115**^[182]



115

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von Acrolein **114** (1.35 mL, 20.2 mmol) in Eisessig (3 mL) wurde

über 30 min eine Lösung von Natriumazid (1.97 g, 30.3 mmol) in Wasser (9 mL) getropft und anschließend weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Es wurden Wasser (20 mL) und Diethylether (50 mL) hinzugegeben, die Phasen getrennt, die organische Phase mit ges. wässriger Natriumcarbonatlösung (30 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (50 g, 5.5 x 5.0 cm, PE:Et₂O 65:35) erhalten. Auf das Trocknen im Hochvakuum wurde aufgrund der Flüchtigkeit verzichtet. Wegen der generellen Instabilität wurde die Zielverbindung **115** nur NMR-spektroskopisch identifiziert und direkt in der folgenden Reaktion umgesetzt.

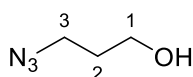
Ausbeute (115): 331 mg (3.34 mmol, 17%) einer farblosen Flüssigkeit.

DC: $R_f = 0.24$ (PE:Et₂O 50:50).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 2.74$ (td, $J = 6.4$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 2 H, 2-H), 3.62 (t, $J = 6.4$ Hz, 2 H, 3-H), 9.81 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 42.95$ (C-2), 44.62 (C-3), 199.26 (C-1).

Synthese von 3-Azidopropanol **116**



116

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 3-Azidopropanol **115** (320 mg, 3.23 mmol) in abs. Methanol (25 mL) wurde mit Natriumborhydrid (611 mg, 16.1 mmol) versetzt und unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde 1 h 15 min bei Raumtemperatur gerührt und die Reaktionslösung auf ges. wässrige Ammoniumchloridlösung (100 mL) gegeben. Es wurde mit Ethylacetat (3 x 100 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (35 g, 3.5 x 8.0 cm, PE:EtOAc 75:25) erhalten. Auf das Trocknen im Hochvakuum wurde aufgrund der Flüchtigkeit verzichtet. Wegen der generellen Instabilität wurde die Zielverbindung **116** nur NMR-spektroskopisch identifiziert und direkt in der folgenden Reaktion umgesetzt.

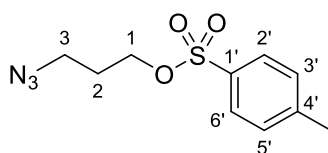
Ausbeute (116): 131 mg (1.30 mmol, 40%) einer farblosen Flüssigkeit.

DC: $R_f = 0.22$ (PE:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.49$ (t, $J = 5.4$ Hz, 1 H, OH), 1.84 (tt, $J = 6.6$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 2 H, 2-H), 3.46 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H, 3-H), 3.76 (dt, $J = 5.8$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 2 H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 31.68$ (C-2), 48.67 (C-3), 60.24 (C-1).

Synthese von 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113**



113

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 3-Azidopropanol **116** (26.0 mg, 257 μmol) in abs. Dichlormethan (5 mL) wurden mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (54.0 mg, 283 μmol) und abs. Pyridin (42.0 μL , 514 μmol) versetzt und 12 d bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 6 d erneut *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (54.0 mg, 283 μmol) und nach 9 d erneut *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (54.0 mg, 283 μmol) und abs. Pyridin (42.0 μL , 514 μmol) hinzugegeben wurden. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser (40 mL) versetzt und mit Dichlormethan (2 x 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde mit ges. wässriger Natriumchloridlösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.0 x 9.0 cm, PE:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute (113): 40.5 mg (159 μmol , 62%) einer farblosen Flüssigkeit.

DC: $R_f = 0.18$ (PE:EtOAc 80:20).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.89$ (tt, $J = 6.4$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 2 H, 2-H), 2.45 (s, 3 H, CH_3), 3.38 (t, $J = 6.4$ Hz, 2 H, 3-H), 3.76 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H, 1-H), 7.34-7.39 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 7.78-7.82 (m, 2 H, 2'-H, 6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 21.79$ (CH_3), 28.60 (C-2), 47.43 (C-3), 67.12 (C-1), 128.05 (C-2', C-6'), 130.08 (C-3', C-5'), 132.92 (C-4'), 145.23 (C-1').

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2923, 2095, 1343, 1171, 1097, 1020, 940, 809, 660, 551$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 220, 262, 273$.

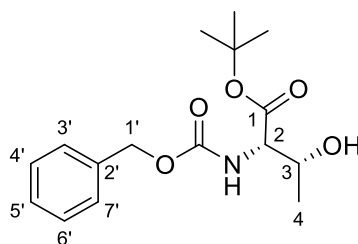
MS (ESI⁺): $m/z = 256.1$ [M+H]⁺.

C₁₀H₁₃N₃O₃S (255.29)

ber.: 256.0750 [M+H]⁺,

gef.: 256.0755 (ESI⁺-HRMS).

Synthese von *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101**



101

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von *N*-Cbz-L-Threonin **118** (1.00 g, 3.96 mmol) und *tert*-Butanol (5.00 mL, 53.3 mmol) in Toluol (20 mL) wurde auf 110 °C erhitzt, bei dieser Temperatur unter Rühren über 30 min *N,N*-Dimethylformamiddineopentylacetal **119** (3.00 mL, 10.8 mmol) hinzuge tropft und für weitere 5 h am Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die gelbe Reaktionslösung mit ges. Natriumcarbonatlösung (2 x 20 mL) und Wasser (2 x 20 mL) gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (70 g, 30.5 x 3.5 cm, *iso*-Hex:EtOAc 75:25) erhalten.

Ausbeute (101): 879 mg (2.84 mmol, 72%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.23$ (*iso*-Hex:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.23$ (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, 4-H), 1.47 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.95 (s, 1 H, OH), 4.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 2-H), 4.23-4.31 (m, 1 H, 3-H), 5.08-5.18 (m, 2 H, 1'-H), 5.51 (d, $J = 7.5$ Hz, 1 H, NH), 7.28-7.42 (m, 5 H, Aryl-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 20.05$ (C-4), 28.15 (OC(CH₃)₃), 59.75 (C-2), 67.25 (C-1'), 68.51 (C-3), 82.78 (OC(CH₃)₃), 128.20, 128.30, 128.67 (C-3', C-4', C-5', C-6', C-7'), 136.44 (C-2'), 156.84 (Cbz-C=O), 170.30 (C-1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -10.3$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 58$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3404, 2982, 2934, 1704, 1511, 1217, 1149, 1086, 1065, 742$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 211, 257$.

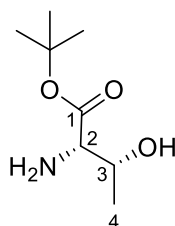
MS (ESI⁺): $m/z = 332.1$ [M+Na]⁺.

C₁₆H₂₃NO₅ (309.36)

ber.: 332.1468 [M+Na]⁺,

gef.: 332.1483 (ESI⁺-HRMS).

Synthese von L-Threonin-*tert*-butylester **117**



117

Eine Lösung von *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101** (96.0 mg, 310 μ mol) in abs. Methanol (20 mL) wurde mit Palladium (20.0 mg, 18.8 μ mol, 10% auf Aktivkohle) versetzt und 1 h unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten. Auf das Trocknen im Hochvakuum wurde aufgrund der Flüchtigkeit verzichtet.

Ausbeute (117): 53.0 mg (303 μ mol, 97%) eines gelben Öls.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.25$ (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, 4-H), 1.47 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 2.94 (s, 3 H, OH, NH₂), 3.22 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2-H), 3.84 (dq, $J = 6.3$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 3-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 20.03$ (C-4), 28.22 (OC(CH₃)₃), 60.59 (C-2), 68.32 (C-3), 82.21 (OC(CH₃)₃), 172.78 (C-1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -10.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3239, 2976, 2933, 1724, 1368, 1250, 1153, 1117, 1068, 842$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI⁺): $m/z = 176.1$ [M+H]⁺.

C₈H₁₇NO₃ (175.23)

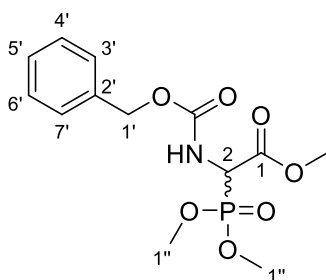
ber.: 176.1281 [M+H]⁺,

gef.: 176.1275 (ESI⁺-HRMS).

7.2.2 Synthese von Phosphonaten für die Wittig-Horner-Reaktionen mit dem Uridin-5'-Aldehyd 35

7.2.2.1 Synthese von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycin-*tert*-butylester 44

Synthese von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinmethylester **80**^[146,147]



80

Zu einer auf 80 °C erwärmten Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-methoxyglycinmethylester **121**^[145,146] (5.00 g, 19.7 mmol) in abs. Toluol (20 mL) wurde langsam Phosphor(III)-chlorid (1.93 mL, 22.1 mmol) getropft und 4 h am Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Trimethylphosphit (2.64 mL, 22.3 mmol) versetzt. Es wurde 2 h am Rückfluss erhitzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der flüssige, orange Rückstand wurde in Ethylacetat (150 mL) aufgenommen und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x 70 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die resultierende farblose Flüssigkeit wurde mit *n*-Hexan (30 mL) versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die resultierende Suspension wurde filtriert und der weiße Rückstand mit *n*-Hexan (3 x 15 mL, 0 °C) gewaschen. Die Zielverbindung wurde mehrere Tage im Vakuum getrocknet.

Ausbeute (80): 5.13 g (15.5 mmol, 78%) eines hell-orangen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3.78 (d, ³J_{HP} = 11.0 Hz, 3 H, 1''-H_a), 3.82 (d, ³J_{HP} = 11.3 Hz, 3 H, 1''-H_b), 3.83 (s, 3 H, COOCH₃), 4.92 (dd, ²J_{HP} = 22.4 Hz, J = 9.3 Hz, 1 H, 2-H), 5.12 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 1'-H_a), 5.16 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 1'-H_b), 5.61 (d, J = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.29-7.38 (m, 5 H, Aryl-H).

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 52.25$ (d, $^1J_{\text{CP}} = 148.2$ Hz, C-2), 53.48 (COOCH_3), 54.14 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.8$ Hz, $\text{C}_a\text{-1''}$), 54.28 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.4$ Hz, $\text{C}_b\text{-1''}$), 67.79 (C-1'), 128.28, 128.47, 128.69 (C-3', C-4', C-5' C-6' C-7'), 136.00 (C-2'), 155.73 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.2$ Hz, Cbz-C=O), 167.34 (d, $^2J_{\text{CP}} = 2.1$ Hz, C-1).

^{31}P -NMR (121 MHz, CDCl_3): $\delta = 19.62$.

Schmelzpunkt: $T_m = 47$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 1713, 1236, 1210, 1026, 985, 782, 755, 703, 524$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 206, 252, 258$.

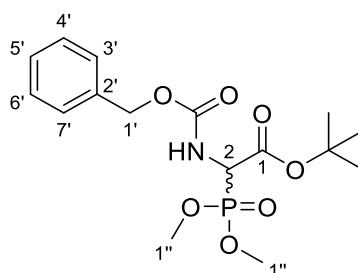
MS (ESI^+): $m/z = 354.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_7\text{P}$ (331.26)

ber.: 354.0713 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 354.0713 (ESI^+ -HRMS).

Synthese von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycin-*tert*-butylester 44^[148]



44

Die erste Stufe der nachfolgenden Reaktionssequenz wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Zu einer auf 15 °C gekühlten Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinmethylester **80** (9.26 g, 27.9 mmol) in Dioxan (10 mL) wurde vorsichtig wässrige Natriumhydroxidlösung (14.5 mL, 29.0 mmol, 2 M) getropft und 30 min bei 15 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt, mit Salzsäure (5 M) auf einen pH-Wert von ~ 2 eingestellt und mit Wasser (50 mL) und Ethylacetat (100 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (4 x 50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Eine Lösung des orangen Rückstandes in abs. Dichlormethan (80 mL) und abs. *tert*-Butanol (350 mL) wurde mit frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å und 4 Å) versetzt und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Reaktionsmischung wurde *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin (8.34 g, 33.4 mmol) gegeben und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es

wurde durch Celite[®] filtriert, die Celite[®] mit Ethylacetat (4 x 200 mL) gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt. Der resultierende braune Feststoff wurde in Ethylacetat (500 mL) aufgenommen, auf 0 °C gekühlt und mit auf 0 °C gekühlter wässriger Chlorwasserstoffsäure (3 x 100 mL, 0.5 M) und ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (400 g, 9.0 x 22 cm, *iso*-Hex:EtOAc 50:50) erhalten.

Ausbeute (44): 8.09 g (21.7 mmol, 78%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.12$ (*iso*-Hex:EtOAc 50:50).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = 1.42$ (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 3.69 (d, ³ $J_{HP} = 10.9$ Hz, 3 H, 1''-H_a), 3.70 (d, ³ $J_{HP} = 11.1$ Hz, 3 H, 1''-H_b), 4.67 (dd, ² $J_{HP} = 23.7$ Hz, $J = 9.2$ Hz, 1 H, 2-H), 5.07 (d, $J = 12.8$ Hz, 1 H, 1'-H_a), 5.10 (d, $J = 12.8$ Hz, 1 H, 1'-H_b), 7.27-7.39 (m, 5 H, Aryl-H), 8.16 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = 27.45$ (OC(CH₃)₃), 52.69 (d, ¹ $J_{CP} = 147.7$ Hz, C-2), 53.43 (d, ² $J_{CP} = 6.6$ Hz, C_a-1''), 53.53 (d, ² $J_{CP} = 6.5$ Hz, C_b-1''), 65.96 (C-1'), 82.26 (OC(CH₃)₃), 127.65, 127.82, 128.29 (C-3', C-4', C-5' C-6' C-7'), 136.68 (C-2'), 156.11 (d, ³ $J_{CP} = 8.8$ Hz, Cbz-C=O), 165.49 (d, ² $J_{CP} = 3.2$ Hz, C-1).

³¹P-NMR (121 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = 19.53$.

Schmelzpunkt: $T_m = 71$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 1714, 1227, 1155, 1051, 1017, 758, 728, 530, 521$.

UV (MeCN): $\lambda_{max} = 206, 252, 257$.

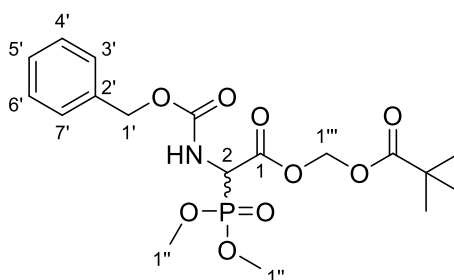
MS (ESI⁺): $m/z = 396.1$ [M+Na]⁺.

C₁₆H₂₄NO₇P (373.34)

ber.: 396.1183 [M+Na]⁺,

gef.: 396.1192 (ESI⁺-HRMS).

7.2.2.2 Synthese von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinpivaloyloxymethylester **79**

**79**

Die erste Stufe der nachfolgenden Reaktionssequenz wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Zu einer auf 15 °C gekühlten Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinmethylester **80** (1.00 g, 3.02 mmol) in Dioxan (3 mL) wurde vorsichtig wässrige Natriumhydroxidlösung (1.51 mL, 3.02 mmol, 2 M) getropft und 30 min bei 15 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt, mit Salzsäure (5 M) neutralisiert (~ pH 7) und mit Wasser (10 mL) und Ethylacetat (20 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (4 x 10 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Zu einer Lösung des farblosen Rückstandes (923 mg, 2.91 mmol) in abs. Acetonitril (10 mL) wurden unter Lichtausschluss POM-I (442 µL, 2.91 mmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (495 µL, 2.91 mmol) getropft und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Zielverbindung wurde ohne Aufarbeitung durch zweifache säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (150 g, 5.5 x 11 cm, PE:EtOAc 40:60; 100 g, 4.5 x 10 cm, PE:EtOAc 50:50) erhalten.

Ausbeute (79): 778 mg (1.80 mmol, 60%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.30$ (PE:EtOAc 40:60).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = 1.15$ (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 3.68 (d, ³*J*_{HP} = 4.6 Hz, 3 H, 1''-H_a), 3.70 (d, ³*J*_{HP} = 4.6 Hz, 3 H, 1''-H_b), 4.86 (dd, ²*J*_{HP} = 24.3 Hz, *J* = 9.0 Hz, 1 H, 2-H), 5.08 (s, 2 H, 1'-H), 5.73 (d, *J* = 5.9 Hz, 1 H, 1'''-H_a), 5.82 (d, *J* = 5.9 Hz, 1 H, 1'''-H_b), 7.27-7.39 (m, 5 H, Aryl-H), 8.39 (d, *J* = 7.9 Hz, 1 H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = 26.43$ (C(CH₃)₃), 52.04 (d, ¹*J*_{CP} = 146.5 Hz, C-2), 53.67 (d, ²*J*_{CP} = 6.7 Hz, C_a-1''), 53.73 (d, ²*J*_{CP} = 6.6 Hz, C_b-1''), 66.09 (C-1'), 79.64 (C-1'''), 127.66, 127.86, 128.30 (C-3', C-4', C-5', C-6', C-7'), 136.68 (C-2'), 156.70 (Cbz-C=O), 165.91 (C-1), 175.93 (C(=O)C(CH₃)₃).

^{31}P -NMR (121 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = 17.97$.

Schmelzpunkt: $T_m = 98$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3242, 2978, 1710, 1536, 1240, 1106, 1033, 970, 695, 556$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205, 257$.

MS (ESI $^+$): $m/z = 454.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

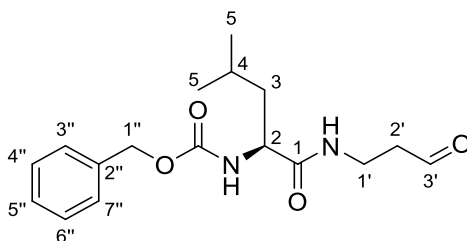
$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_9\text{P}$ (431.07)

ber.: 454.1237 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 454.1251 (ESI $^+$ -HRMS).

7.2.3 Synthese von L-Leucin-abgeleiteten Aldehyden für die reduktive Aminierung von Nucleosyl-Aminosäuren

7.2.3.1 Synthese von 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-leucinamid **88**^[184]



88

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3',3'-diethoxypropyl)-L-leucinamid **124**^[90] (520 mg, 1.32 mmol) in THF (4 mL) wurde mit Salzsäure (2.80 mL, 1.40 mmol, 0.5 M) versetzt und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde ges. wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (100 mL) hinzugegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (70 g, 6.5 x 6.0 cm, DCM:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (88): 412 mg (1.29 mmol, 98%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.24$ (DCM:EtOAc 60:40).

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.92$ (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, 5- H_a), 0.92 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, 5- H_b), 1.45-1.52 (m, 1 H, 3- H_a), 1.57-1.69 (m, 2 H, 3- H_b , 4-H), 2.69 (dd, $J = 5.4$ Hz,

$J = 5.4$ Hz, 2 H, 2'-H), 3.46-3.58 (m, 2 H, 1'-H), 4.06-4.15 (m, 1 H, 2-H), 5.09 (s, 2 H, 1''-H), 5.17 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H, 2-NH), 6.46 (s, 1 H, 1-NH), 7.28-7.40 (m, 5 H, Aryl-H), 9.76 (s, 1 H, 3'-H).

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 22.09$ (C_a -5), 23.03 (C_b -5), 24.88 (C-4), 33.12 (C-1'), 41.59 (C-3), 43.71 (C-2'), 53.79 (C-2), 67.28 (C-1''), 128.23 (C-3'', C-7''), 127.38 (C-5''), 128.70 (C-4'', C-6''), 136.33 (C-2''), 156.33 (Cbz-C=O), 172.45 (C-1), 201.18 (C-3').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -39.1$ ($c = 0.4$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 65$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3295, 2959, 1682, 1650, 1531, 1282, 1233, 1040, 696, 664$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 206, 257$.

MS (ESI^+): $m/z = 343.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

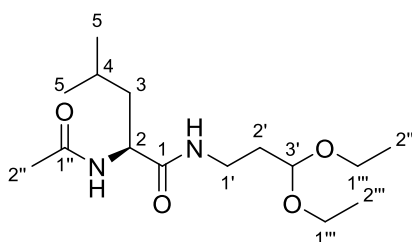
$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ (320.38)

ber.: 343.1628 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 343.1598 (ESI^+ -HRMS).

7.2.3.2 Synthese von 2-*N*-(Acetyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-leucinamid 78

Synthese von 2-*N*-(Acetyl)-1-*N*-(3,3-diethoxypropyl)-L-leucinamid 127



127

Eine Lösung von *N*-Acetyl-L-leucin **81** (100 mg, 577 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (6 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (78.0 mg, 577 μmol) und *N*-(3-Dimethyl-aminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid Hydrochlorid (111 mg, 577 μmol) versetzt. Die resultierende Suspension wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt und mit 1-Amino-3,3-diethoxypropan **82** (89.0 μL , 549 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (100 μL , 577 μmol) versetzt. Es wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Ethylacetat (30 mL) verdünnt und Wasser (20 mL) zugegeben. Die organische Phase wurde mit Salzsäure (20 mL, 0.5 M, 0 °C), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x 20 mL) und Wasser (2 x 20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.0 x 9.0 cm, DCM:MeOH 95:5) erhalten.

Ausbeute (127): 46.0 mg (152 μ mol, 26%) eines farblosen Öls und Aldehyd **78** (17.5 mg, 76.6 μ mol, 13%) als sauber isoliertes Nebenprodukt.

Analytische Daten **127**:

DC: $R_f = 0.15$ (DCM:MeOH 90:10).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.92$ (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, 5- H_a), 0.93 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, 5- H_b), 1.21 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 3 H, 2'''- H_a), 1.23 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 3 H, 2'''- H_b), 1.49-1.52 (m, 1 H, 3- H_a), 1.59-1.66 (m, 2 H, 3- H_b , 4-H), 1.80-1.84 (m, 2 H, 2'-H), 1.99 (s, 3 H, 2''-H), 3.29-3.34 (m, 1 H, 1'- H_a), 3.35-3.42 (m, 1 H, 1'- H_b), 3.47-3.50 (m, 1 H, 1'''- H_a), 3.50-3.54 (m, 1 H, 1'''- H_b), 3.63-3.68 (m, 1 H, 1'''- H_c), 3.68-3.74 (m, 1 H, 1'''- H_d), 4.36-4.40 (m, 1 H, 2-H), 4.55 (dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 3'-H), 6.04 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 2-NH), 6.50-6.56 (m, 1 H, 1-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 15.49$ (C_a -2'''), 15.49 (C_b -2'''), 22.35 (C_a -5), 22.94 (C_b -5), 23.28 (C -2''), 24.96 (C -4), 33.16 (C -2'), 35.68 (C -1'), 41.36 (C -3), 51.91 (C -2), 62.12 (C_a -1'''), 62.22 (C_b -1'''), 102.40 (C -3'), 170.32 (C -1''), 172.40 (C -1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -26.7$ ($c = 0.9$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3269, 3086, 2971, 1629, 1550, 1384, 1120, 1058, 717, 606$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

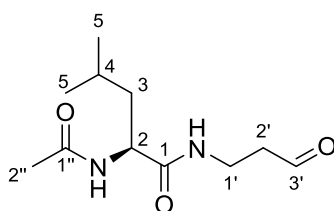
MS (ESI^+): $m/z = 325.2$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

$\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$ (302.22)

ber.: 325.2098 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$,

gef.: 325.2120 (ESI^+ -HRMS).

Synthese von 2-*N*-(Acetyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-*L*-leucinamid **78**



78

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von 2-*N*-(Acetyl)-1-*N*-(3,3-diethoxypropyl)-*L*-leucinamid **127** (32.0 mg, 106 μ mol) in Tetrahydrofuran (2 mL) wurde mit Salzsäure (222 μ L, 111 μ mol, 0.5 M) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Ges. wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) wurde

zugegeben und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3×50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.0×9.0 cm, DCM:MeOH 95:5 \rightarrow 92:8) erhalten.

Ausbeute (78): 20.1 mg (88.0 μ mol, 83%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.08$ (DCM:MeOH 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.92$ (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, 5- H_a), 0.94 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, 5- H_b), 1.47-1.50 (m, 1 H, 3- H_a), 1.59-1.65 (m, 2 H, 3- H_b , 4-H), 2.00 (s, 3 H, 2''-H), 2.70-2.72 (m, 2 H, 2'-H), 3.52-3.56 (m, 2 H, 1'-H), 4.34-4.39 (m, 1 H, 2-H), 5.93-5.94 (m, 1 H, 2-NH), 6.51-6.57 (m, 1 H, 1-NH), 9.78 (s, 1 H, 3'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 22.35$ (C_a -5), 22.94 (C_b -5), 23.29 (C-2''), 24.97 (C-4), 33.16 (C-1'), 41.36 (C-3), 43.74 (C-2'), 51.92 (C-2), 170.37 (C-1''), 172.40 (C-1), 201.10 (C-3').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -50.0$ ($c = 0.6$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3275, 3080, 2957, 2928, 1723, 1640, 1541, 1372, 1278, 596$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI^+): $m/z = 251.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ (228.15)

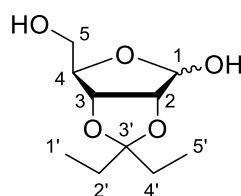
ber.: 251.1366 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 251.1393 (ESI^+ -HRMS).

7.2.4 Synthese von propylierten Aminoribose-Derivaten für die Synthese 6'-N- und N3-aminoribosylierter Muraymycin-Analoga

7.2.4.1 Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds 95

Synthese von 2,3-O-(3'-Pentyliden)-D-ribose 129^[123]



129

Eine Lösung von D-Ribose **103** (8.00 g, 53.2 mmol) in abs. 3-Pentanon (180 mL) und abs. *N,N*-Dimethylformamid (60 mL) wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat (30.0 g, 240 mmol) und Benzolsulfonsäure (9.50 g, 60.0 mmol) versetzt und 19 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit abs. Triethylamin (12.0 ml, 86.0 mmol) versetzt. Es wurde filtriert, der Rückstand mit Ethylacetat (4 x 75 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der resultierende farblose Feststoff wurde in Ethylacetat (400 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (350 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (200 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (250 g, 6.0 x 19 cm, DCM:MeOH 97:3) als α/β -Anomerenmischung erhalten. Aus diesem Grunde wurde nach NMR-spektroskopischer und massenspektrometrischer Identifizierung auf eine weitere Charakterisierung verzichtet.

Ausbeute (129): 6.55 g (30.0 mmol, 57%) eines farblosen Öls als α/β -Anomerenmischung (5:95).

β -Anomer (Hauptisomer):

DC: $R_f = 0.12$ (DCM:MeOH 97:3).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = 0.81$ (t, $J = 7.6$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.84 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.52 (q, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.61 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4'-H), 3.38-3.49 (m, 2 H, 5-H), 4.03 (ddd, $J = 7.5$ Hz, $J = 4.8$ Hz, $J = 0.6$ Hz, 1 H, 4-H),

4.44 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2-H), 4.70 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, 1 H, 3-H), 4.89 (s, 1 H, 5-OH), 5.18 (s, 1 H, 1-H), 6.44 (s, 1 H, 1-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = 7.28$ (C-5'), 8.31 (C-1'), 28.34 (C-4'), 28.76 (C-2'), 62.66 (C-5), 82.13 (C-3), 86.22 (C-2), 86.54 (C-4), 101.91 (C-1), 115.10 (C-3').

α/β -Anomerenmischung

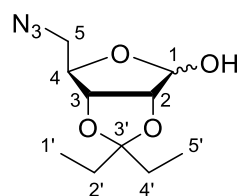
MS (ESI $^+$): $m/z = 241.1$ [M+Na] $^+$.

C₁₀H₁₈O₅ (218.25)

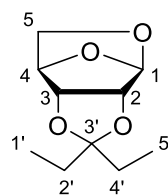
ber.: 241.1047 [M+Na] $^+$,

gef.: 241.1037 (ESI $^+$ -HRMS).

Synthese von 5-Azido-2,3-*O*-(3'-pentylden)-5-desoxy-D-ribose **130** und Tricyclus **131**^[123]



130



131

Eine Lösung von 2,3-*O*-(3'-Pentylden)-D-ribose **129** (510 mg, 2.34 mmol) in abs. Pyridin (15 mL) wurde mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (668 mg, 3.51 mmol) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (100 mL) verdünnt und mit Salzsäure (3 x 50 mL, 1 M), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Das resultierende gelbe Öl wurde in abs. *N,N*-Dimethylformamid (10 mL) gelöst, mit Natriumazid (304 mg, 4.67 mmol) versetzt und 16 h auf 50 °C erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur gekühlt, mit Diethylether (100 mL) verdünnt und mit Wasser (4 x 50 mL) sowie ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindungen wurden durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (60 g, 4.5 x 11 cm, PE:EtOAc 90:10) erhalten. **130** wurde als α/β -Anomerenmischung isoliert und aus diesem Grunde nach NMR-spektroskopischer und massenspektrometrischer Identifizierung auf eine weitere Charakterisierung verzichtet.

Ausbeute (130): 414 mg (1.70 mmol, 73%) eines farblosen Öls als α/β -Anomerenmischung (75:25).

(130): α -Anomer (Hauptisomer):

DC (130): $R_f = 0.23$ (PE:EtOAc 85:15).

$^1\text{H-NMR}$ (130) (500 MHz, C_6D_6): $\delta = 0.78$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.96 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.40 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.66 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.21 (d, $J = 4.3$ Hz, 1 H, OH), 2.68 (dd, $J = 12.6$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 5-H_a), 2.98 (dd, $J = 12.6$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 5-H_b), 4.14 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 3-H), 4.23 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 4-H), 4.36 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 2-H), 5.25 (d, $J = 4.3$ Hz, 1 H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (130) (126 MHz, C_6D_6): $\delta = 7.72$ (C-5'), 8.56 (C-1'), 29.35 (C-4'), 29.60 (C-2'), 54.02 (C-5), 82.82 (C-3), 86.02 (C-2), 86.70 (C-4), 103.89 (C-1), 116.86 (C-3').

α/β -Anomerenmischung

MS (130) (ESI⁺): $m/z = 266.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ (243.26)

ber.: 266.1111 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 266.1101 (ESI⁺-HRMS).

Ausbeute (131): 17.8 mg (88.9 μmol , 4%) eines farblosen Öls.

DC (131): $R_f = 0.23$ (PE:EtOAc 85:15).

$^1\text{H-NMR}$ (131) (500 MHz, C_6D_6): $\delta = 0.81$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.04 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.42 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.78 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.58 (d, $J = 7.2$ Hz, 1 H, 5-H_a), 2.93 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 5-H_b), 3.68 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, 3-H), 3.96 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, 2-H), 4.17 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 4-H), 5.37 (s, 1 H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (131) (126 MHz, C_6D_6): $\delta = 8.20$ (C-5'), 8.71 (C-1'), 29.55 (C-4'), 29.82 (C-2'), 62.77 (C-5), 77.78 (C-4), 79.93 (C-3), 82.15 (C-2), 100.16 (C-1), 116.31 (C-3').

Drehwert (131): $[\alpha]_{20}^D = -38.5$ ($c = 1.3$, CHCl_3).

IR (131) (ATR): $\tilde{\nu} = 2972, 2941, 1463, 1095, 1070, 923, 908, 889, 826, 638$.

UV/VIS (131) (MeCN): keine messbare Absorption.

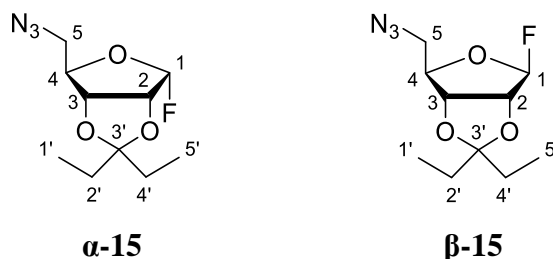
MS (131) (ESI⁺): $m/z = 201.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (200.23)

ber.: 201.1121 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 201.1111 (ESI⁺-HRMS).

Synthese von 5-Azido-1-fluor-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-1,5-didesoxy- α -D-ribose α -15 und 5-Azido-1-fluor-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-1,5-didesoxy- β -D-ribose β -15^[123]



Zu einer auf $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von 5-Azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy-D-ribose **130** (275 mg, 1.13 mmol) in abs. Dichlormethan (10 mL) wurde Deoxo-Fluor[®] **132** (730 μL , 1.70 mmol, 50% in Tetrahydrofuran) getropft, 1 h bei $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und bei $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (5 mL) versetzt. Die Mischung wurde mit Dichlormethan (100 mL) verdünnt und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (80 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (60 g, 4.5 x 11 cm, PE:Et₂O 95:5) erhalten.

Ausbeute (α -15): 64.6 mg (263 μmol , 23%) eines farblosen Öls.

DC (α -15): $R_f = 0.24$ (PE:Et₂O 80:20).

¹H-NMR (α -15) (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.80$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.01 (t, $J = 7.6$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.46 (qd, $J = 7.5$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.90 (qd, $J = 7.6$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.46 (dd, $J = 13.3$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1 H, 5-H_a), 2.75 (dd, $J = 13.3$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1 H, 5-H_b), 4.12 (ddd, $^3J_{\text{HF}} = 14.8$ Hz, $J = 7.2$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 2-H), 4.19 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1 H, 3-H), 4.22 (ddd, $J = 3.7$ Hz, $J = 3.5$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1 H, 4-H), 5.27 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 63.8$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (α -15) (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 8.53$ (C-5'), 8.58 (C-1'), 29.09 (C-2'), 29.24 (C-4'), 51.79 (C-5), 80.18 (C-3), 81.65 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20.2$ Hz, C-2), 83.02 (d, $^4J_{\text{CF}} = 1.5$ Hz, C-4), 108.47 (d, $^1J_{\text{CF}} = 236.9$ Hz, C-1), 120.83 (C-3').

¹⁹F-NMR (α -15) (282 MHz, C₆D₆): $\delta = -130.43$ (dd, $^2J_{\text{FH}} = 63.9$ Hz, $^3J_{\text{FH}} = 14.5$ Hz).

Drehwert (α -15): $[\alpha]_{20}^D = +85.0$ ($c = 2.0$, CHCl₃).

IR (α -15) (ATR): $\tilde{\nu} = 2975, 2942, 2099, 1462, 1272, 1128, 1103, 1046, 920, 797$.

UV/VIS (α -15) (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (α -15) (ESI⁺): $m/z = 268.1$ [M+Na]⁺.

C₁₀H₁₆FN₃O₃ (245.25)

ber.: 268.1068 [M+Na]⁺,

gef.: 268.1059 (ESI⁺-HRMS).

Ausbeute (β -15): 172 mg (702 μ mol, 62%) eines farblosen Öls.

DC (β -15): $R_f = 0.39$ (PE:Et₂O 80:20).

¹H-NMR (β -15) (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.72$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.85 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.31 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.54 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.53 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1 H, 5-H_a), 2.88 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 5-H_b), 4.03 (d, $J = 5.9$ Hz, 1 H, 3-H), 4.22 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 6.7$ Hz, $^5J_{\text{HF}} = 3.5$ Hz, 1 H, 4-H), 4.31 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 5.9$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 2-H), 5.62 (d, $^2J_{\text{HF}} = 61.6$ Hz, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (β -15) (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 7.48$ (C-5'), 8.46 (C-1'), 29.08 (C-4'), 29.55 (C-2'), 53.05 (C-5), 81.55 (C-3), 85.37 (d, $^2J_{\text{CF}} = 40.5$ Hz, C-2), 87.80 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.7$ Hz, C-4), 115.83 (d, $^1J_{\text{CF}} = 222.2$ Hz, C-1), 117.33 (C-3').

¹⁹F-NMR (β -15) (282 MHz, C₆D₆): $\delta = -114.98$ (ddd, $^2J_{\text{FH}} = 61.6$ Hz, $^3J_{\text{FH}} = 5.7$ Hz, $^5J_{\text{FH}} = 3.5$ Hz).

Drehwert (β -15): $[\alpha]_{20}^D = +37.5$ ($c = 0.8$, CHCl₃).

IR (β -15) (ATR): $\tilde{\nu} = 2975, 2942, 2099, 1272, 1127, 1095, 963, 922, 833, 552$.

UV/VIS (β -15) (MeCN): keine messbare Absorption.

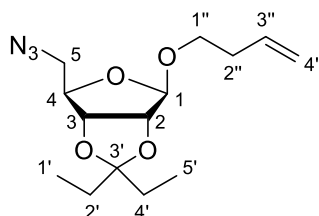
MS (β -15) (ESI⁺): $m/z = 268.1$ [M+Na]⁺.

C₁₀H₁₆FN₃O₃ (245.25)

ber.: 268.1068 [M+Na]⁺,

gef.: 268.1065 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Butenylglycosids 128



128

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 5-Azido-1-fluor-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-1,5-didesoxy- β -D-ribose β -15 (50.0 mg, 20.0 μ mol) in abs. Dichlormethan (2 mL) wurde mit zuvor ausgeheiztem Molekularsieb (4 Å) und 3-Buten-1-ol (18.0 mg, 31.0 μ mol) in abs.

Dichlormethan (0.5 mL) versetzt und 1 h bei 0 °C gerührt. Es wurde Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (38.0 µL, 30.0 mmol, 0.2 M in Dichlormethan) zugegeben und weitere 2 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bei dieser Temperatur mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (5 mL) versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt, filtriert und der Rückstand mit Dichlormethan (3 x 30 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumchloridlösung (100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (14 g, 1.5 x 19 cm, *iso*-Hex:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (128): 40.0 mg (13.0 µmol, 65%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.49$ (*iso*-Hex:Et₂O 90:10).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.80$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.99 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.42 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.70 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.06-2.17 (m, 2 H, 2''-H), 2.70 (dd, $J = 12.5$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 5-H_a), 3.02 (dd, $J = 12.5$ Hz, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H_b), 3.12 (dt, $J = 9.5$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.63 (dt, $J = 9.5$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 4.17 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, 1 H, 3-H), 4.29 (ddd, $J = 8.1$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, 1 H, 4-H), 4.44 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2-H), 4.98-5.04 (m, 2 H, 4''-H), 5.08 (s, 1 H, 1-H), 5.68 (ddt, $J = 17.1$ Hz, $J = 10.3$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 3''-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 7.47$ (C-5'), 8.29 (C-1'), 29.13 (C-4'), 29.41 (C-2'), 34.03 (C-2''), 53.57 (C-5), 67.03 (C-1''), 82.52 (C-3), 85.62 (C-2), 85.74 (C-4), 109.00 (C-1), 116.43 (C-4''), 116.63 (C-3'), 135.06 (C-3'').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -47.5$ ($c = 1.7$, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2974, 2939, 2882, 2100, 1464, 1360, 1273, 926, 847$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

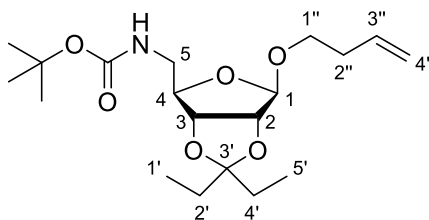
MS (ESI⁺): $m/z = 320.2$ [M+Na]⁺.

C₁₄H₂₃N₃O₄ (297.35)

ber.: 320.1581 [M+Na]⁺,

gef.: 320.1525 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des *N*-Boc-geschützten Olefins **134**

**134**

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung des Olefins **128** (123 mg, 414 μmol) in abs. THF/Toluol (1:1, 6 mL) wurde mit Triphenylphosphan (326 mg, 1.24 mmol) und Wasser (373 μL , 20.7 mmol) versetzt und 13 h bei 50 °C gerührt. Es wurde auf Raumtemperatur gekühlt, Di-*tert*-butyldicarbonat (181 mg, 827 μmol) und Natriumhydrogencarbonat (70.0 mg, 830 μmol) hinzugefügt und weitere 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (150 mL) verdünnt, mit Wasser (150 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (150 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (40 g, 3.0 x 18 cm, *iso*-Hex:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (134): 150 mg (404 μmol , 98%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.15$ (*iso*-Hex:Et₂O 90:10).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.78$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.41 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.43 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.69 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.08-2.20 (m, 2 H, 2''-H), 3.11 (dt, $J = 9.4$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.20-3.30 (m, 2 H, 5-H), 3.53 (dt, $J = 9.4$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 4.31 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 4-H), 4.46 (d, $J = 5.9$ Hz, 1 H, 3-H), 4.53 (d, $J = 5.9$ Hz, 1 H, 2-H), 4.96 (s, 1 H, NH), 4.98-5.05 (m, 2 H, 4''-H), 5.08 (s, 1 H, 1-H), 5.70 (ddt, $J = 17.1$ Hz, $J = 10.3$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 3''-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 7.75$ (C-5'), 8.60 (C-1'), 28.49 (OC(CH₃)₃), 29.38 (C-4'), 29.62 (C-2'), 34.30 (C-2''), 44.18 (C-5), 67.43 (C-1''), 78.88 (OC(CH₃)₃), 82.79 (C-3), 86.45 (C-2), 86.76 (C-4), 109.32 (C-1), 116.58 (C-3'), 116.79 (C-4''), 135.06 (C-3''), 156.01 (Boc-C=O).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -30.5$ ($c = 1.9$, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2974, 1716, 1699, 1514, 1365, 1248, 1167, 924, 872$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

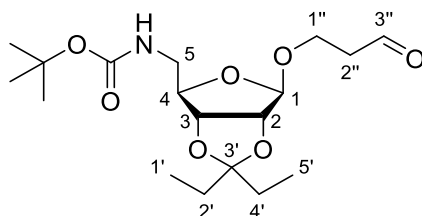
MS (ESI⁺): $m/z = 394.2$ [M+Na]⁺.

C₁₉H₃₃NO₆ (371.47)

ber.: 394.2200 [M+Na]⁺,

gef.: 394.2213 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Aldehyds **95**



95

Eine Lösung des *N*-Boc-geschützten Olefins **134** (106 mg, 269 μ mol) in abs. Dichlormethan (3 mL), abs. Methanol (26 mL) und abs. Pyridin (87.0 μ L, 1.08 mmol) wurde auf -78 °C gekühlt. Es wurde unter Rühren für 15 min Ozon durch die Reaktionslösung geleitet, für 45 min mit Stickstoff gespült und anschließend Dimethylsulfid (198 μ L, 2.69 mmol) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht unter Rühren langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (40 g, 3.0 x 13 cm, *iso*-Hex:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (95): 87.0 mg (233 μ mol, 86%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.15$ (*iso*-Hex:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆, 70 °C): $\delta = 0.79$ (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.40-1.48 (m, 2 H, 2'-H), 1.43 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.68 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 4'-H), 2.01-2.13 (m, 2 H, 2''-H), 3.12-3.19 (m, 2 H, 5-H), 3.23 (ddd, $J = 10.1$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 5.3$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.68 (ddd, $J = 10.1$ Hz, $J = 6.8$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 4.29 (dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 6.3$ Hz, 1 H, 4-H), 4.42 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 3-H), 4.45 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 2-H), 4.84 (s, 1 H, NH), 4.99 (s, 1 H, 1-H), 9.33 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, 3''-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆, 70 °C): $\delta = 7.19$ (C-5'), 7.89 (C-1'), 28.06 (OC(CH₃)₃), 29.21 (C-4'), 29.33 (C-2'), 43.20 (C-2''), 44.04 (C-5), 61.30 (C-1''), 78.66 (OC(CH₃)₃), 82.47 (C-3), 86.01 (C-2), 86.45 (C-4), 109.15 (C-1), 116.42 (C-3'), 155.61 (Boc-C=O), 198.24 (C-3'').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -17.6$ ($c = 1.7$, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 1713, 1695, 1518, 1365, 1257, 1167, 1011, 924, 791$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI⁺): $m/z = 396.2$ [M+Na]⁺.

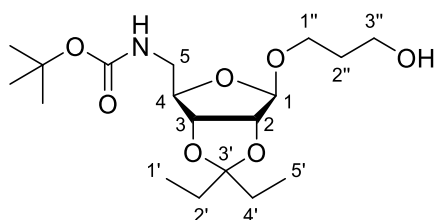
C₁₈H₃₁NO₇ (373.44)

ber.: 396.1993 [M+Na]⁺,

gef.: 396.2005 (ESI⁺-HRMS).

7.2.4.2 Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Tosylats 96

Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Alkohols 135



135

Eine Lösung des *N*-Boc-geschützten Olefins **95** (70.0 mg, 19.0 μ mol) in abs. Dichlormethan (3 mL), abs. Methanol (26 mL) und abs. Pyridin (61.0 μ L, 75.0 μ mol) wurde auf -78 °C gekühlt. Es wurde unter Rühren für 30 min Ozon durch die Reaktionslösung geleitet und anschließend Dimethylsulfid (138 μ L, 1.88 mmol) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht unter Rühren langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Aldehyd als Rohprodukt in abs. Methanol (10 mL) aufgenommen. Es wurde auf 0 °C gekühlt und bei dieser Temperatur Natriumborhydrid (34.0 mg, 1.90 mmol) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend ges. wässrige Ammoniumchloridlösung hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 30 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (2 x 20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (25 g, 3.0 x 13 cm, *iso*-Hex:EtOAc 65:35) erhalten.

Ausbeute (135): 66.0 mg (18.0 μ mol, 95%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.12$ (*iso*-Hex:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.80$ (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 0.99 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.38-1.47 (m, 2 H, 2'-H), 1.43 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.51-1.59 (m, 2 H, 2''-H), 1.69 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 4'-H), 3.14 (ddd, $J = 9.6$ Hz, $J = 5.5$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1 H, 1''-H_a),

3.19-3.26 (m, 2 H, 5-H), 3.44-3.51 (m, 1 H, 3''-H_a), 3.51-3.58 (m, 1 H, 3''-H_b), 3.72-3.79 (m, 1 H, 1''-H_b), 4.32 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 1 H, 4-H), 4.41 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 3-H), 4.50 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2-H), 5.05 (s, 1 H, NH), 5.10 (s, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 7.76$ (C-5'), 8.60 (C-1'), 28.48 (OC(CH₃)₃), 29.39 (C-4'), 29.63 (C-2'), 32.60 (C-2''), 44.42 (C-5), 59.43 (C-3''), 64.87 (C-1''), 79.09 (OC(CH₃)₃), 82.76 (C-3), 86.42 (C-2), 86.65 (C-4), 109.38 (C-1), 116.64 (C-3'), 156.23 (Boc-C=O).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -30.2$ ($c = 1.7$, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2936, 1689, 1365, 1250, 1167, 1088, 1012, 972, 924$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

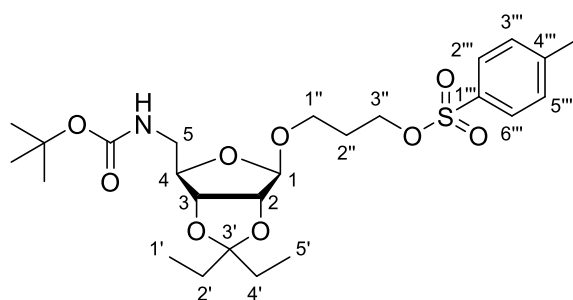
MS (ESI⁺): $m/z = 398.2$ [M+Na]⁺.

C₁₈H₃₃NO₇ (375.46)

ber.: 398.2149 [M+Na]⁺,

gef.: 398.2130 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Aminoribose-abgeleiteten Tosylats **96**



96

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung des Aminoribose-abgeleiteten Alkohols **135** (77.0 mg, 205 μ mol) in abs. Dichlormethan (5 mL) wurde mit abs. Pyridin (38.0 μ L, 472 μ mol) und *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (50.8 mg, 267 μ mol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 3 d gerührt. Es wurde Wasser (20 mL) hinzugegeben und die wässrige Phase mit Dichlormethan (2 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger Natriumchloridlösung (30 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (18 g, 2.0 x 13 cm, *iso*-Hex:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute (96): 86.0 mg (162 μ mol, 79%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.18$ (*iso*-Hex:EtOAc 80:20).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ = 0.78 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 0.97 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.41 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.43 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.44-1.52 (m, 2 H, 2''-H), 1.67 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 1.88 (s, 3 H, Aryl- CH_3), 2.92 (ddd, J = 9.8 Hz, J = 6.3 Hz, J = 6.3 Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.02-3.10 (m, 1 H, 3''-H_a), 3.12-3.20 (m, 1 H, 3''-H_b), 3.37 (ddd, J = 9.8 Hz, J = 5.7 Hz, J = 5.7 Hz, 1 H, 1''-H_b), 3.90-3.99 (m, 2 H, 5-H), 4.22 (dd, J = 6.3 Hz, J = 6.3 Hz, 1 H, 4-H), 4.33 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, 3-H), 4.38 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, 2-H), 4.67 (dd, J = 5.4 Hz, J = 5.4 Hz, 1 H, NH), 4.85 (s, 1 H, 1-H), 6.77 (d, J = 8.2 Hz, 2 H, 3'''-H, 5'''-H), 7.77 (d, J = 8.2 Hz, 2 H, 2'''-H, 6'''-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, C_6D_6): δ = 7.74 (C-5'), 8.60 (C-1'), 21.18 (Aryl- CH_3), 28.46 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.26 (C-2''), 29.38 (C-4'), 29.65 (C-2'), 44.14 (C-5), 63.25 (C-3''), 67.13 (C-1'''), 79.04 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 82.70 (C-3), 86.20 (C-2), 86.75 (C-4), 109.05 (C-1), 116.61 (C-3'), 128.20 (C-2''', C-6'''), 129.87 (C-3''', C-5'''), 134.49 (C-4'''), 144.24 (C-1'''), 155.94 ($\text{NC}(\text{=O})\text{O}$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -22.8$ (c = 2.0, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 1713, 1364, 1174, 1095, 924, 837, 814, 752, 663.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 225, 262, 273.

MS (ESI^+): m/z = 552.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

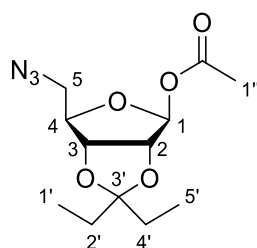
$\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}_9\text{S}$ (529.64)

ber.: 552.2238 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 552.2237 (ESI^+ -HRMS).

7.2.5 Synthese von Aminoribose-Derivaten für die Glycosylierung der 5'-Hydroxy-Funktion von Nucleosyl-Aminosäuren

7.2.5.1 Synthese von 1-*O*-Acetyl-5-azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose **136**



136

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 5-Azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy-D-ribose **130** (100 mg, 411 μmol) und 4-Dimethylaminopyridin (25.0 mg, 206 μmol) in abs. Pyridin

(5 mL) wurde unter Rühren Essigsäureanhydrid (232 μ L, 2.47 mmol) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei 0 °C und anschließend 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (25 g, 3.5 x 11 cm, *iso*-Hex:Et₂O 90:10) erhalten.

Ausbeute (34): 113 mg (396 μ mol, 96%) eines farblosen Öls.

DC: R_f = 0.24 (*iso*-Hex:Et₂O 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ = 0.78 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 0.91 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.40 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.61 (s, 3 H, 1''-H), 1.62 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 2.55 (dd, J = 12.8 Hz, J = 6.1 Hz, 1 H, 5-H_a), 2.80 (dd, J = 12.8 Hz, J = 7.4 Hz, 1 H, 5-H_b), 4.12 (dd, J = 6.1 Hz, J = 0.8 Hz, 1 H, 3-H), 4.23 (ddd, J = 7.4 Hz, J = 6.1 Hz, J = 0.8 Hz, 1 H, 4-H), 4.33 (d, J = 6.1 Hz, 1 H, 2-H), 6.50 (s, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): δ = 7.67 (C-5'), 8.48 (C-1'), 20.66 (C-1''), 29.39 (C-4'), 29.70 (C-2'), 53.09 (C-5), 82.31 (C-3), 85.93 (C-2), 86.91 (C-4), 102.77 (C-1), 117.50 (C-3'), 168.20 (Ac-C=O).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -10.0 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2975, 2941, 2098, 1745, 1218, 1101, 958, 923, 844, 552.

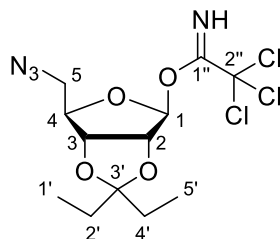
UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI⁺): m/z = 308.1 [M+Na]⁺.

C₁₂H₁₉N₃O₅ (285.30)

ber.: 308.1217 [M+Na]⁺,

gef.: 308.1239 (ESI⁺-HRMS).

7.2.5.2 Synthese des Ribosyl-Trichloracetimidats **137****137***Variante 1:*

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 5-Azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy-D-ribose **130** (23.2 mg, 96.0 µmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) wurde mit Trichloracetonitril (96.0 µL, 960 µmol) und 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) **107** (4.30 µL, 28.8 µmol) versetzt und 1 h 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (8 g, 1.5 x 11 cm, PE:Et₂O 92:8) erhalten.

Ausbeute (137): 34.1 mg (88.0 µmol, 92%) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 5-Azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy-D-ribose **130** (23.0 mg, 94.5 µmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) wurde mit Trichloracetonitril (87.0 µL, 863 µmol) und Polymer-Supported 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (PS-DBU) **108** (20.0 mg, 43.2 µmol) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das PS-DBU wurde abfiltriert und die Zielverbindung nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (137): 35.0 mg (90.3 µmol, 96%) eines farblosen Öls.

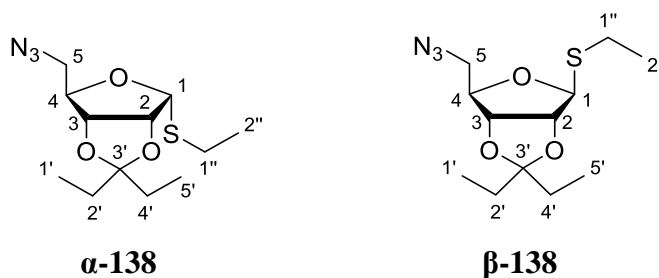
Aufgrund der generellen Instabilität wurde die Zielverbindung **137** nur NMR-spektroskopisch identifiziert und direkt in der folgenden Reaktion umgesetzt.

DC: $R_f = 0.65$ (PE:Et₂O 90:10).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ = 0.76 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 0.91 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.38 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.62 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 2.66 (dd, J = 12.8 Hz, J = 6.3 Hz, 1 H, 5-H_a), 3.16 (dd, J = 12.8 Hz, J = 8.3 Hz, 1 H, 5-H_b), 4.10 (dd, J = 6.0 Hz, J = 0.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.35 (ddd, J = 8.3 Hz, J = 6.3 Hz, J = 0.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.55 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, 2-H), 6.59 (s, 1 H, 1-H), 8.42 (s, 1 H, NH).

^{13}C -NMR (126 MHz, C_6D_6): δ = 7.62 (C-5'), 8.48 (C-1'), 29.26 (C-4'), 29.64 (C-2'), 52.79 (C-5), 82.14 (C-3), 85.57 (C-2), 87.81 (C-4), 91.37 (C-2''), 107.17 (C-1), 117.55 (C-3'), 160.21 (C-1'').

7.2.5.3 Synthese von 5-Azido-1-thioethyl-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- α -D-ribose **α -138** und 5-Azido-1-thioethyl-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose **β -138**



Variante 1:

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 1-*O*-Acetyl-5-azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose **136** (20.0 mg, 70.1 μmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde mit Ethanthiol (7.6 μL , 0.11 mmol, auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) versetzt und 1 h bei 0 °C gerührt. Es wurde Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (13.2 μL , 105 μmol , auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) hinzugefügt und weitere 2 h bei 0 °C und 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor erneut Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (13.2 μL , 105 μmol , auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) hinzugefügt wurde. Nach weiteren 18 h wurde das Reaktionsgemisch ein weiteres Mal mit Ethanthiol (7.6 μL , 0.11 mmol, auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) und Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (13.2 μL , 105 μmol , auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) versetzt und weitere 24 h gerührt, bevor erneut Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (13.2 μL , 105 μmol , auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) hinzugefügt und weitere 3 d bei Raumtemperatur gerührt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (5 mL) versetzt, filtriert und mit Dichlormethan (100 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (70 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 1.5 x 12 cm, PE:Et₂O 90:10 → 80:20) erhalten.

Ausbeute (α -138): -

Ausbeute (β -138): 2.7 mg (9.4 μ mol, 13%, 19% brsm) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 5-Azido-1-fluor-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-1,5-didesoxy- β -D-ribose **β -15** (20.2 mg, 82.4 μ mol) in abs. Dichlormethan (2 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde mit Ethanthiol (8.9 μ L, 0.12 mmol) versetzt und 4 h bei 0 °C gerührt, wobei alle 45 min Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (5 x 2.07 μ L, 16.5 μ mol, auf 0.2 M in Dichlormethan verdünnt) hinzugefügt wurde. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 mL) versetzt, auf Raumtemperatur erwärmt, filtriert und mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (60 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.0 x 8.0 cm, PE:Et₂O 90:10) erhalten.

Ausbeute (α -138): 7.0 mg (24 μ mol, 30%) eines farblosen Öls.

Ausbeute (β -138): 8.1 mg (28 μ mol, 34%) eines farblosen Öls.

Aufgrund der generellen Instabilität wurden die Zielverbindungen **α -138** und **β -138** nur NMR-spektroskopisch identifiziert und direkt in der folgenden Reaktion umgesetzt.

DC (α -138): R_f = 0.51 (PE:Et₂O 80:20).

¹H-NMR (α -138) (500 MHz, C₆D₆): δ = 0.80 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 1.09 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.16 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 2''-H), 1.47 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.83 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 2.52 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 1''-H), 2.63 (dd, J = 13.2 Hz, J = 5.6 Hz, 1 H, 5-H_a), 2.72 (dd, J = 13.2 Hz, J = 3.8 Hz, 1 H, 5-H_b), 4.14 (dd, J = 6.8 Hz, J = 3.8 Hz, 1 H, 3-H), 4.18 (ddd, J = 5.6 Hz, J = 3.8 Hz, J = 3.8 Hz, 1 H, 4-H), 4.42 (dd, J = 6.8 Hz, J = 5.0 Hz, 1 H, 2-H), 5.09 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (α -138) (126 MHz, C₆D₆): δ = 8.38 (C-5'), 8.53 (C-1'), 15.40 (C-2''), 25.77 (C-1''), 29.52, 29.69 (C-2', C-4'), 51.62 (C-5), 81.69 (C-3), 82.49, 82.59 (C-2, C-4), 88.95 (C-1), 119.43 (C-3').

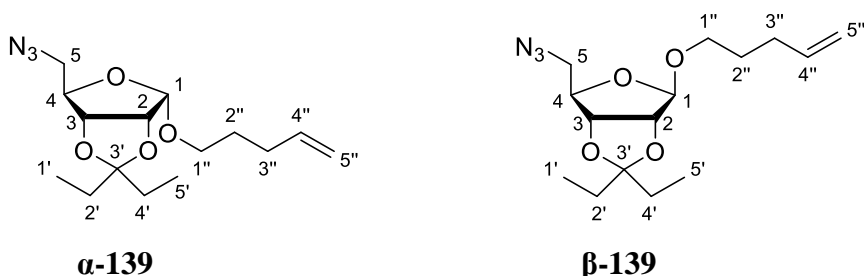
DC (β -138): R_f = 0.68 (PE: Et₂O 80:20).

¹H-NMR (β -138) (500 MHz, C₆D₆): δ = 0.77 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 0.96 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.06 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 2''-H), 1.39 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.67 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 2.41 (dq, J = 12.9 Hz, J = 7.5 Hz, 2 H, 1''-H_a), 2.50 (dq, J = 12.9 Hz, J = 7.5 Hz,

2 H, 1''-H_a), 2.84 (dd, $J = 12.7$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 5-H_a), 3.25 (dd, $J = 12.7$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1 H, 5-H_b), 4.10 (ddd, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, 1 H, 3-H), 4.35 (dddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 6.0$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, 1 H, 4-H), 4.55 (ddd, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.8$ Hz, $J = 0.5$ Hz, 1 H, 2-H), 6.59 (d, $J = 1.8$ Hz, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (**β-138**) (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 7.84$ (C-5'), 8.54 (C-1'), 14.68 (C-2''), 25.30 (C-1''), 29.47 (C-4'), 29.61 (C-2'), 53.01 (C-5), 83.33 (C-3), 86.29 (C-2), 86.72 (C-4), 89.93 (C-1), 117.77 (C-3').

7.2.5.4 Synthese von α -Pentenylglycosid **α -139** und β -Pentenylglycosid **β -139**



Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 5-Azido-1-fluor-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-1,5-didesoxy- β -D-ribose **β -15** (91.1 mg, 371 μ mol) in abs. Dichlormethan (3.5 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit 4-Penten-1-ol **140** (57.0 μ L, 557 μ mol) versetzt. Es wurde Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (47 μ L, 371 μ mol, auf 0.24 M in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft und 45 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde erneut Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (12 μ L, 92.8 μ mol, auf 0.24 M in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft, weitere 15 min bei 0 °C gerührt, ein weiteres Mal Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (12 μ L, 92.8 μ mol, auf 0.24 M in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft und weitere 15 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 mL) versetzt, auf Raumtemperatur erwärmt, filtriert und mit Dichlormethan (100 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (70 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (35 g, 3.5 x 12 cm, PE:Et₂O 90:10) erhalten.

Ausbeute (α -139): 6.0 mg (19 μ mol, 5%) eines farblosen Öls.

DC (α -139): $R_f = 0.26$ (PE:Et₂O 80:20).

¹H-NMR (α-139) (500 MHz, C₆D₆): δ = 0.86 (t, *J* = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 1.08 (t, *J* = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.54 (q, *J* = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.56-1.65 (m, 2 H, 2''-H), 1.88-2.02 (m, 2 H, 4'-H), 2.06-2.14 (m, 2 H, 3''-H), 2.65 (dd, *J* = 13.1 Hz, *J* = 4.7 Hz, 1 H, 5-H_a), 2.88 (dd, *J* = 13.1 Hz, *J* = 3.5 Hz, 1 H, 5-H_b), 3.24 (dt, *J* = 9.4 Hz, *J* = 6.3 Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.69 (dt, *J* = 9.4 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1 H, 1''-H_b), 4.13 (ddd, *J* = 4.4 Hz, *J* = 3.9 Hz, *J* = 3.8 Hz, 1 H, 4-H), 4.25 (dd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 3.9 Hz, 1 H, 3-H), 4.33 (dd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 4.5 Hz, 1 H, 2-H), 4.71 (d, *J* = 4.5 Hz, 1 H, 1-H), 4.98 (dd, *J* = 10.1 Hz, *J* = 0.8 Hz, 1 H, 5''-H_a), 5.04 (dd, *J* = 17.0 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1 H, 5''-H_b), 5.74 (ddt, *J* = 17.0 Hz, *J* = 10.1 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1 H, 4''-H).

¹³C-NMR (α-139) (126 MHz, C₆D₆): δ = 8.58 (C-1'), 8.71 (C-5'), 29.33 (C-2''), 29.61, 29.64 (C-2', C-4'), 30.76 (C-3''), 52.23 (C-5), 67.89 (C-1''), 80.62 (C-4), 81.56 (C-2), 81.68 (C-3), 102.30 (C-1), 115.04 (C-5''), 120.46 (C-3'), 138.45 (C-4'').

Drehwert (α-139): $[\alpha]_{20}^D = +89.5$ (c = 1.9, CHCl₃).

IR (α-139) (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2972, 2930, 2098, 1272, 1171, 1154, 1087, 1060, 993, 915.

UV/VIS (α-139) (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (α-139) (ESI⁺): m/z = 312.2 [M+H]⁺.

C₁₅H₂₅N₃O₄ (311.38)

ber.: 312.1918 [M+H]⁺,

gef.: 312.1918 (ESI⁺-HRMS).

Ausbeute (β-139): 81.3 mg (261 μmol, 70%) eines farblosen Öls.

DC (β-139): *R*_f = 0.46 (PE:Et₂O 80:20).

¹H-NMR (β-139) (500 MHz, C₆D₆): δ = 0.81 (t, *J* = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 1.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.40-1.51 (m, 4 H, 2'-H, 2''-H), 1.70 (q, *J* = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 1.93-2.00 (m, 2 H, 3''-H), 2.68 (dd, *J* = 12.5 Hz, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 5-H_a), 3.00 (dd, *J* = 12.5 Hz, *J* = 8.6 Hz, 1 H, 5-H_b), 3.07 (dt, *J* = 9.6 Hz, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.61 (dt, *J* = 9.6 Hz, *J* = 6.5 Hz, 1 H, 1''-H_b), 4.18 (dd, *J* = 6.1 Hz, *J* = 1.1 Hz, 1 H, 3-H), 4.30 (ddd, *J* = 8.6 Hz, *J* = 6.6 Hz, *J* = 1.1 Hz, 1 H, 4-H), 4.53 (d, *J* = 6.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.95-4.98 (m, 1 H, 5''-H_a), 5.01 (ddd, *J* = 17.0 Hz, *J* = 3.5 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1 H, 5''-H_b), 5.11 (s, 1 H, 1-H), 5.70 (ddt, *J* = 17.0 Hz, *J* = 10.2 Hz, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 4''-H).

¹³C-NMR (β-139) (126 MHz, C₆D₆): δ = 7.76 (C-5'), 8.61 (C-1'), 29.05 (C-2''), 29.36 (C-4'), 29.68 (C-2'), 30.59 (C-3''), 53.84 (C-5), 67.43 (C-1''), 82.79 (C-3), 85.86 (C-2), 86.01 (C-4), 109.37 (C-1), 115.10 (C-5''), 116.89 (C-3'), 138.23 (C-4'').

Drehwert (β-139): $[\alpha]_{20}^D = -43.5$ (c = 1.3, CHCl₃).

IR (β-139) (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2974, 2939, 2097, 1272, 1091, 1060, 1043, 1010, 966, 921.

UV/VIS (β -139) (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (β -139) (ESI⁺): $m/z = 312.2$ [M+H]⁺.

C₁₅H₂₅N₃O₄ (311.38)

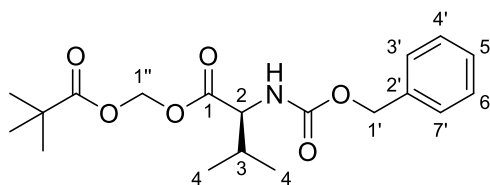
ber.: 312.1918 [M+H]⁺,

gef.: 312.1917 (ESI⁺-HRMS).

7.2.6 Synthese von Harnstoffdipeptiden für die Peptidkupplung zu Muraymycin-Analoga mit vollständigem Grundgerüst

7.2.6.1 Synthese des POM-Ester-Harnstoffdipeptids 83

Synthese von *N*-Cbz-L-Valin-POM-ester 144



144

Eine Lösung von *N*-Cbz-L-Valin **143** (1.00 g, 3.98 mmol) in abs. Acetonitril (20 mL) wurde unter Lichtausschluss mit POM-I **112** (600 μ L, 3.98 mmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (0.68 mL, 3.98 mmol) versetzt und 1 h 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (250 mL) verdünnt, die organische Phase mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (225 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (80 g, 3.0 x 7.0 cm, PE:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute (144): 1.38 g (3.78 mmol, 95%) eines gelben Öls.

DC: $R_f = 0.47$ (PE:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.60$ (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4-H_a), 0.74 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4-H_b), 1.06 (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 1.85-1.95 (m, 1 H, 3-H), 4.45 (dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, 2-H), 5.00 (d, $J = 5.0$ Hz, 1 H, NH), 5.02-5.14 (m, 2 H, 1'-H), 5.39 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.63 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 7.03-7.23 (m, 5 H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H).

^{13}C -NMR (126 MHz, C_6D_6): $\delta = 17.32$ (C_a -4), 18.83 (C_b -4), 26.86 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 31.01 (C -3), 38.71 ($\text{C}(=\text{O})\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 59.34 (C -2), 67.21 (C -1'), 79.46 (C -1''), 128.35 , 128.54 , 128.69 (C -3', C -4', C -5', C -6', C -7'), 137.03 (C -2'), 156.40 (Cbz - $\text{C}=\text{O}$), 170.96 (C -1), 176.35 ($\underline{\text{C}}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -12.2$ ($c = 1.9$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3373$, 2968 , 1753 , 1720 , 1517 , 1230 , 1089 , 1024 , 981 , 697 .

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 204$, 257 .

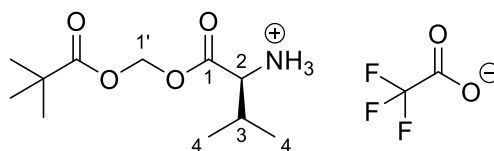
MS (ESI^+): $m/z = 366.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_6$ (365.43)

ber.: 366.1911 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 366.1918 (ESI^+ -HRMS).

Synthese von L-Valin-POM-ester TFA-Salz **145**



145

Eine Lösung von *N*-Cbz-L-Valin-POM-ester **144** (625 mg, 1.71 mmol) in abs. *iso*-Propanol (15 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (1.76 mL, 18.8 mmol) und Trifluoressigsäure (145 μL , 1.88 mmol, auf 10% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Es wurde Palladium Black (100 mg, 877 μmol) hinzugegeben und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (5 x 6 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (145): 565 mg (1.71 mmol, quant.) eines kristallinen, farblosen Feststoffes.

^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 1.07$ (d, $J = 7.0$ Hz, 6 H, 4-H), 1.22 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.29 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 3-H), 4.02 (d, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 2-H), 5.80 (d, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 1'- H_a), 6.00 (d, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 1'- H_b).

^{13}C -NMR (126 MHz, CD_3OD): $\delta = 18.03$ (C_a -4), 18.24 (C_b -4), 27.21 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 30.97 (C -3), 39.79 ($\text{C}(=\text{O})\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 59.10 (C -2), 81.57 (C -1'), 169.19 (C -1), 178.00 ($\underline{\text{C}}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

^{19}F -NMR (282 MHz, CD_3OD): $\delta = -76.94$ (s, CF_3).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -7.4$ ($c = 1.4$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 87$ $^\circ\text{C}$.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2977, 1752, 1667, 1203, 1177, 1133, 1110, 960, 802, 718$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption

MS (ESI⁺): $m/z = 232.2$ [M+H]⁺.

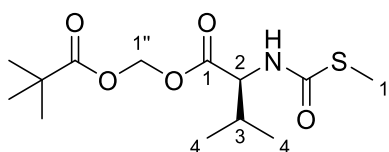
C₁₁H₂₁NO₄ (231.29)

ber.: 232.1543 [M+H]⁺,

C₁₁H₂₁NO₄ · CF₃COOH (345.32)

gef.: 232.1539 (ESI⁺-HRMS).

Synthese von *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **141**



141

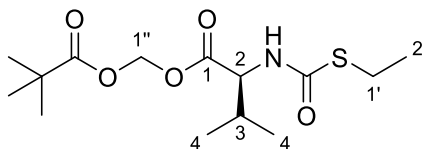
Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von L-Valin-POM-ester TFA-Salz **145** (59.7 mg, 181 μ mol) in ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 mL) und Ethylacetat (3 mL) wurde mit Chlorameisensäurethiomethylester **146** (15.5 μ L, 181 μ mol) versetzt und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Methanol (1 mL) zugegeben und die Reaktionsmischung mit Ethylacetat (50 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumchloridlösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und die Zielverbindung durch Entfernen der Lösungsmittels im Vakuum erhalten. Da die Verbindung **141** direkt in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt wurde, wurde nach NMR-spektroskopischer Identifizierung auf eine weitere Charakterisierung verzichtet.

Ausbeute (141): 50.0 mg (164 μ mol, 90%) eines gelben Öls.

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.60$ (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4-H_a), 0.72 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4-H_b), 1.06 (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 1.79-1.87 (m, 1 H, 3-H), 2.10 (s, 3 H, 1'-H), 4.62 (s, 1 H, 2-H), 5.37 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.55 (s, 1 H, NH), 5.60 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 1''-H_b).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 12.09$ (C-1'), 17.33 (C_a-4), 18.62 (C_b-4), 26.68 (C(=O)C(CH₃)₃), 31.06 (C-3), 38.54 (C(=O)C(CH₃)₃), 58.85 (C-2), 79.35 (C-1''), 167.80 (NC(=O)S), 170.18 (C-1), 176.14 (C(=O)C(CH₃)₃).

Synthese von *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-POM-ester **142**

**142**

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von *L*-Valin-POM-ester TFA-Salz **145** (100 mg, 302 μ mol) in ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (4 mL) und Ethylacetat (4 mL) wurde mit Chlorameisensäurethioethylester **147** (31.5 μ L, 302 μ mol) versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Methanol (1 mL) zugegeben und die Reaktionsmischung mit Ethylacetat (50 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (30 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (40 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und die Zielverbindung durch Entfernen der Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (142): 85.5 mg (268 μ mol, 89%) eines gelben Öls.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ = 0.59 (d, J = 6.9 Hz, 3 H, 4- H_a), 0.72 (d, J = 6.9 Hz, 3 H, 4- H_b), 1.06 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.11 (t, J = 7.3 Hz, 3 H, 2'-H), 1.79-1.86 (m, 1 H, 3-H), 2.79 (dq, J = 8.3 Hz, J = 7.3 Hz, 1 H, 1'-H), 4.58-4.70 (m, 1 H, 2-H), 5.36 (d, J = 5.5 Hz, 1 H, 1''- H_a), 5.56 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, NH), 5.60 (d, J = 5.5 Hz, 1 H, 1''- H_b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, C_6D_6): δ = 15.72 (C-2'), 17.31 (C-4), 18.61 (C-4), 24.51 (C-1'), 26.66 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.06 (C-3), 38.52 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 58.68 (C-2), 79.31 (C-1''), 158.90 ($\text{NC}(=\text{O})\text{S}$), 170.17 (C-1), 176.12 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -8.8 (c = 0.6, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3350, 2968, 2934, 1753, 1655, 1188, 1157, 1099, 983, 809.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

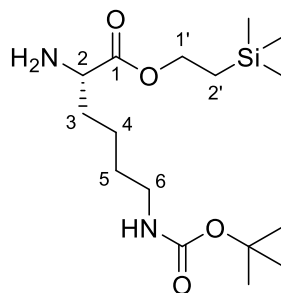
MS (ESI^+): m/z = 342.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}_5\text{S}$ (319.42)

ber.: 342.1346 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 342.1349 (ESI^+ -HRMS).

Synthese von L-Lysin-(N^ε-Boc)-TMSE-ester **148**

**148**

Eine Lösung von *N*-Cbz-L-Lysin-(N^ε-Boc)-TMSE-ester **150** (100 mg, 208 μmol) in abs. *iso*-Propanol (6 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (193 μL, 2.08 mmol) versetzt, Palladium Black (20 mg, 175 μmol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (148): 72.1 mg (208 μmol, quant.) eines farblosen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ = 0.07 (s, 9 H, Si(CH₃)₃), 0.99-1.08 (m, 2 H, 2'-H), 1.34-1.40 (m, 2 H, 4-H), 1.43 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.43-1.49 (m, 2 H, 5-H), 1.56-1.65 (m, 1 H, 3-H_a), 1.68-1.78 (m, 1 H, 3-H_b), 3.03 (t, *J* = 6.9 Hz, 2 H, 6-H), 3.41 (dd, *J* = 6.8 Hz, *J* = 6.0 Hz, 1 H, 2-H), 4.17-4.28 (m, 1 H, 1'-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CD₃OD): δ = -1.33 (Si(CH₃)₃), 18.43 (C-2'), 23.94 (C-4), 28.97 (OC(CH₃)₃), 30.90 (C-5), 35.52 (C-3), 41.24 (C-6), 55.30 (C-2), 64.34 (C-1'), 80.00 (OC(CH₃)₃), 158.91 (Boc-C=O), 176.99 (C-1).

Drehwert: [α]₂₀^D = -5.0 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3370, 2952, 1709, 1365, 1248, 1168, 857, 835, 761, 694.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

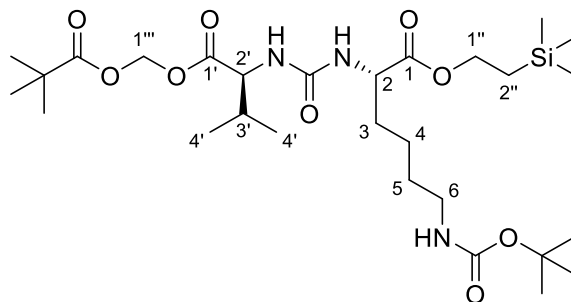
MS (ESI⁺): *m/z* = 347.2 [M+H]⁺.

C₁₆H₃₄N₂O₄Si (346.54)

ber.: 347.2361 [M+H]⁺,

gef.: 347.2373 (ESI⁺-HRMS).

Synthese von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-L-lysin-(*N*^ε-Boc)-TMSE-ester **153**

**153**

Variante 1:

Eine Lösung von L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-TMSE-ester **148** (52.0 mg, 149 μmol) und *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **141** (50.0 mg, 164 μmol) in abs. Ethylacetat (5 mL) wurde mit *N*-Methylmorpholin (49.0 μL, 447 μmol) und Silbertrifluormethansulfonat (57.4 mg, 224 μmol) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das milchig violette Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Ethylacetat (3 x 30 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x 60 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (3 x 60 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (30 g, 3.5 x 12 cm, PE:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (153): 67.3 mg (114 μmol, 77%) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Eine Lösung von L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-TMSE-ester **148** (70.3 mg, 203 μmol) und *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **142** (71.3 mg, 223 μmol) in abs. Ethylacetat (7 mL) wurde mit *N*-Methylmorpholin (66.9 μL, 608 μmol) und Silbertrifluormethansulfonat (78.1 mg, 304 μmol) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das milchig violette Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Ethylacetat (3 x 40 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x 80 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (3 x 80 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (30 g, 3.5 x 12 cm, PE:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (153): 115 mg (195 μmol, 97%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.24$ (PE:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): $\delta = 0.02$ (s, 9 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_a), 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_b), 0.95-1.01 (m, 2 H, 2''-H), 1.17 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.30-1.37 (m, 2 H, 4-H), 1.40 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.42-1.50 (m, 2 H, 5-H), 1.59-1.68 (m, 1 H, 3-H_a), 1.73-1.82 (m, 1 H, 3-H_b), 2.03-2.11 (m, 1 H, 3'-H), 3.04 (dt, $J = 11.2$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 2 H, 6-H), 4.17-4.22 (m, 1 H, 1''-H), 4.28-4.36 (m, 2 H, 2-H, 2'-H), 4.46 (dd, $J = 6.8$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 6-NH), 4.80 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 2'-NH), 4.92 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 2-NH), 5.67 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1'''-H_a), 5.83 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1'''-H_b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): $\delta = -1.30$ ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 17.82 ($\text{C}_a\text{-4'}$), 18.02 (C-2''), 19.01 ($\text{C}_b\text{-4'}$), 22.74 (C-4), 27.12 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.75 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.94 (C-5), 31.31 (C-3'), 32.66 (C-3), 38.54 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 41.24 (C-6), 53.65 (C-2), 58.61 (C-2'), 63.82 (C-1''), 79.29 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 80.28 (C-1'''), 156.26 ($\text{NC}(=\text{O})\text{N}$), 157.06 (Boc-C=O), 171.62 (C-1'), 173.24 (C-1), 176.94 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -17.4$ ($c = 0.9$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3360, 2962, 1755, 1642, 1554, 1249, 1171, 1099, 984, 836$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

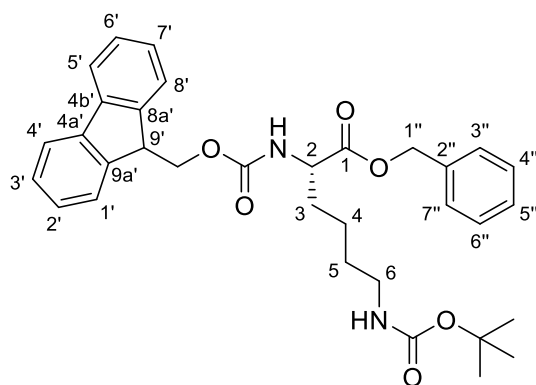
MS (ESI^+): $m/z = 626.3$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$\text{C}_{28}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_9\text{Si}$ (603.83)

ber.: 626.3443 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$,

gef.: 626.3470 ($\text{ESI}^+\text{-HRMS}$).

Synthese von *N*-Fmoc-*L*-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **152**



152

Eine Lösung von *N*-Fmoc-(*N*^ε-Boc)-*L*-Lysin **151** (1.00 g, 2.13 mmol) in abs. Dichlormethan (15 mL) wurde mit 4-Dimethylaminopyridin (26.1 mg, 213 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (544 μL, 3.20 mmol) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde eine Lösung von Benzyloxycarbonylchlorid (366 μL, 2.56 mmol) in abs.

Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben und 4 h bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (150 mL) verdünnt, mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x 150 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (100 g, 6.0 x 9.0 cm, PE:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (152): 1.18 g (2.11 mmol, 99%) eines farblosen Feststoffes.

DC: R_f = 0.20 (PE:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): δ = 1.23-1.36 (m, 2 H, 4-H), 1.40 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.39-1.51 (m, 2 H, 5-H), 1.61-1.71 (m, 1 H, 3- H_a), 1.76-1.85 (m, 1 H, 3- H_b), 3.03 (dt, J = 6.7 Hz, J = 6.7 Hz, 2 H, 6-H), 4.17 (t, J = 6.8 Hz, 1 H, 9'-H), 4.25-4.33 (m, 1 H, 2-H), 4.33-4.41 (m, 3 H, Fmoc- CH_2 , 6-NH), 5.12 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 1''- H_a), 5.12-5.18 (m, 1 H, 2-NH), 5.18 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 1''- H_b), 7.24-7.32 (m, 7H, 3'-H, 6'-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H), 7.35 (t, J = 7.6 Hz, 2 H, 2'-H, 7'-H), 7.53 (d, J = 7.6 Hz, 2 H, 1'-H, 8'-H), 7.71 (d, J = 7.6 Hz, 2 H, 4'-H, 5'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): δ = 22.72 (C-4), 28.74 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.93 (C-5), 32.55 (C-3), 40.76 (C-6), 47.73 (C-9), 54.44 (C-2), 67.33, 67.41 (Fmoc- CH_2 , C-1''), 79.30 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 120.20 (C-4', C-5'), 125.23 (C-1', C-8'), 127.35 (C-3', C-6'), 127.95 (C-2', C-7'), 128.36, 128.50, 128.85 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 135.79 (C-2''), 141.59 (C-4a', C-4b'), 144.18, 144.28 (C-8a', C-9a'), 155.89, 156.10 (Fmoc-C=O, Boc-C=O), 172.20 (C-1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -8.2 (c = 1.2, CHCl_3).

Schmelzpunkt: T_m = 68 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3345, 2936, 1680, 1522, 1249, 1167, 1087, 1005, 733, 620.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 205, 265, 289, 299.

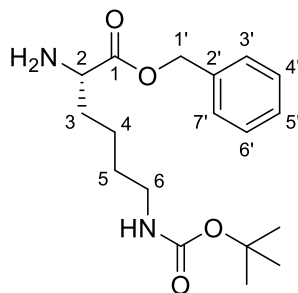
MS (ESI^+): m/z = 559.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6$ (558.68)

ber.: 559.2803 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 559.2825 (ESI^+ -HRMS).

Synthese von L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **149**

**149**

Eine Lösung von *N*-Fmoc-L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **152** (250 mg, 447 μmol) in abs. *N,N*-Dimethylformamid (16 mL) wurde mit Piperidin (4 mL) versetzt, 1 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (50 g, 4.5 x 8.0 cm, DCM:MeOH 97:3) erhalten.

Ausbeute (149): 141 mg (419 μmol, 94%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.24$ (DCM:MeOH 95:5).

¹H-NMR (500 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): $\delta = 1.31$ -1.38 (m, 2 H, 4-H), 1.40 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.38-1.48 (m, 2 H, 5-H), 1.48-1.60 (m, 1 H, 3-H_a), 1.67-1.76 (m, 1 H, 3-H_b), 3.02 (dt, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2 H, 6-H), 3.42 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 2-H), 4.36 (s, 1 H, 6-NH), 5.08-5.12 (m, 2 H, 1'-H), 5.91 (s, 2 H, NH₂), 7.25-7.35 (m, 5 H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): $\delta = 23.12$ (C-4), 28.74 (OC(CH₃)₃), 30.11 (C-5), 34.77 (C-3), 40.95 (C-6), 54.81 (C-2), 66.74 (C-1'), 79.21 (OC(CH₃)₃), 128.30, 128.47, 128.80 (C-3', C-4', C-5', C-6', C-7'), 136.30 (C-2'), 156.07 (Boc-C=O), 175.63 (C-1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -29.6$ ($c = 0.88$, CHCl₃).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3369, 2932, 1698, 1515, 1365, 1249, 1164, 1001, 750, 697$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 205$.

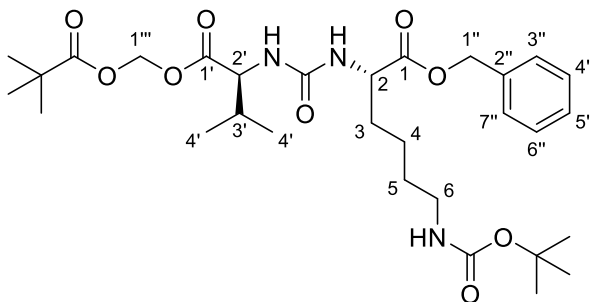
MS (ESI⁺): $m/z = 337.2$ [M+H]⁺.

C₁₈H₂₈N₂O₄ (336.43)

ber.: 337.2122 [M+H]⁺,

gef.: 337.2123 (ESI⁺-HRMS).

Synthese von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-L-lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **154**



154

Eine Lösung von L-Lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **149** (40.0 mg, 119 μmol) und *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-L-valin-POM-ester **142** (41.8 mg, 131 μmol) in abs. Ethylacetat (6 mL) wurde mit *N*-Methylmorpholin (39.2 μL, 357 μmol) und Silbertrifluormethansulfonat (45.8 mg, 178 μmol) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das graue Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Ethylacetat (4 x 30 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x 100 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (3 x 100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (30 g, 3.5 x 12 cm, PE:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (154): 69.2 mg (117 μmol, 98%) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.13$ (PE:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ = 0.88 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H, 4'-H_a), 0.92 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H, 4'-H_b), 1.18 (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 1.27-1.37 (m, 2 H, 4-H), 1.40 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.37-1.47 (m, 2 H, 5-H), 1.62-1.71 (m, 1 H, 3-H_a), 1.74-1.82 (m, 1 H, 3-H_b), 2.07 (dq, $J = 6.7$ Hz, $J = 6.7$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1 H, 3'-H), 3.01 (dt, $J = 12.5$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 2 H, 6-H), 4.32 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1 H, 2'-H), 4.37-4.47 (m, 2 H, 2-H, 6-NH), 4.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 2'-NH), 4.93 (d, $J = 7.4$ Hz, 1 H, 2-NH), 5.11 (d, $J = 12.4$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.16 (d, $J = 12.4$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 5.67 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1'''-H_a), 5.82 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1'''-H_b), 7.25-7.34 (m, 5 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ = 18.01 (C_a-4), 18.99 (C_b-4), 22.67 (C-4), 27.12 (C(=O)C(CH₃)₃), 28.75 (OC(CH₃)₃), 29.91 (C-5), 31.31 (C-3'), 32.50 (C-3), 38.93 (C(=O)C(CH₃)₃), 40.69 (C-6), 53.65 (C-2), 58.62 (C-2'), 67.17 (C-1''), 79.33 (OC(CH₃)₃), 80.29 (C-1'''), 128.31, 128.55, 128.80 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7'').

135.95 (C-2''), 156.27 (NC(=O)N), 157.03 (Boc-C=O), 171.58 (C-1'), 172.99 (C-1), 176.94 ($\underline{\text{C}}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -6.3$ ($c = 1.6$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3368, 2969, 2934, 1744, 1644, 1553, 1169, 1099, 983, 742$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205$.

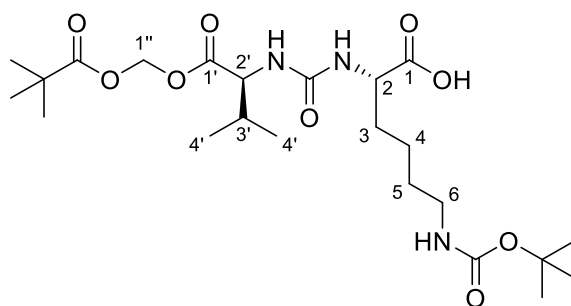
MS (ESI^+): $m/z = 594.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

C₃₀H₄₇N₃O₉ (593.72)

ber.: 594.3385 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 594.3410 (ESI^+ -HRMS).

Synthese von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **83**



83

Variante 1:

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von *O*-POM-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-L-lysin-(*N*^ε-Boc)-TMSE-ester **153** (50.0 mg, 85.0 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (5 mL) wurde mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung (77.0 μL, 76.5 μmol) versetzt und 7 h bei 0 °C gerührt. Die Zielverbindung wurde ohne weitere Aufarbeitung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 3.0 x 10 cm, DCM:MeOH:AcOH 90:10:1) erhalten.

Ausbeute (83): 9.1 mg (18 μmol, 21%) eines farblosen Wachses.

Variante 2:

Eine Lösung von *O*-POM-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-L-lysin-(*N*^ε-Boc)-benzylester **154** (29.0 mg, 48.8 μmol) in abs. Methanol (3 mL) wurde mit Palladium Black (10.0 mg, 87.5 μmol) versetzt und 15 min bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (83): 24.6 mg (48.8 μmol , quant.) eines farblosen Wachses.

DC: $R_f = 0.31$ (DCM:MeOH:AcOH 80:20:1).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): $\delta = 0.90$ (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_a), 0.93 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_b), 1.18 (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 1.36-1.44 (m, 2 H, 4-H), 1.41 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.43-1.52 (m, 2 H, 5-H), 1.67-1.77 (m, 1 H, 3-H_a), 1.79-1.88 (m, 1 H, 3-H_b), 2.04-2.13 (m, 1 H, 3'-H), 3.01-3.12 (m, 2 H, 6-H), 4.23 (dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1 H, 2-H), 4.31 (d, $J = 4.9$ Hz, 1 H, 2'-H), 4.66-4.80 (m, 2 H, 2-NH, 6-NH), 5.27 (s, 1 H, 2'-NH), 5.68 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.83 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1''-H_b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): $\delta = 18.01$ (C_a-4), 18.98 (C_b-4), 22.56 (C-4), 27.10 (C(=O)C(CH₃)₃), 27.35 (OC(CH₃)₃), 28.75 (C-3'), 29.98 (C-5), 31.32 (C-3), 38.95 (C(=O)C(CH₃)₃), 40.56 (C-6), 53.95 (C-2), 58.75 (C-2'), 79.82 (OC(CH₃)₃), 80.32 (C-1''), 156.88 (NC(=O)N), 158.44 (Boc-C=O), 171.45 (C-1'), 174.83 (C-1), 177.01 (C(=O)C(CH₃)₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -12.0$ ($c = 1.7$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3365, 2967, 2932, 1753, 1643, 1555, 1366, 1164, 1099, 982$.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI⁺): $m/z = 526.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

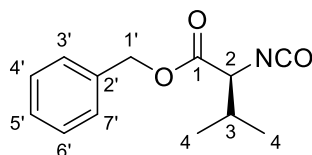
C₂₃H₄₁N₃O₉ (503.59)

ber.: 526.2735 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 526.2738 (ESI⁺-HRMS).

7.2.6.2 Synthese des Benzylester-Harnstoffdipeptids 86

Synthese von *O*-Bn-L-Valin-isocyanat 155



155

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von L-Valin-Hydrochlorid **156** (294 mg, 1.20 mmol) in einem Gemisch aus Dichlormethan und ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (1:1, 10 mL) wurde in einer Portion mit Triphosgen **158** (122 mg, 409 μmol) versetzt und 15 min kräftig bei 0 °C gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan (3 x 50 mL)

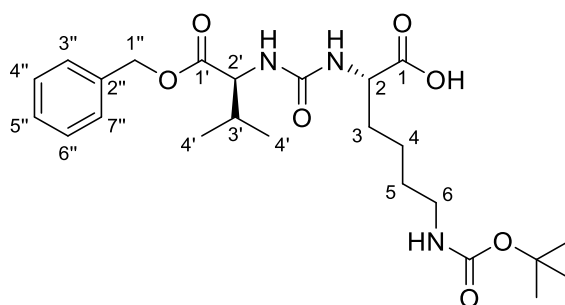
extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und die Zielverbindung durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten. Aufgrund der Flüchtigkeit und der generellen Instabilität von Isocyanaten wurde nach NMR-spektroskopischer Identifizierung von Verbindung **155** auf eine weitere Charakterisierung verzichtet.

Ausbeute (155): 269 mg (1.15 mmol, 96%) eines gelben Öls.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 0.84 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 4-H_a), 1.01 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, 4-H_b), 2.25 (heptd, *J* = 6.8 Hz, *J* = 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.97 (d, *J* = 3.7 Hz, 1 H, 2-H), 5.21 (d, *J* = 12.1 Hz, 1 H, 1'-H_a), 5.26 (d, *J* = 12.1 Hz, 1 H, 1'-H_b), 7.33-7.41 (m, 5 H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 16.55 (C_a-4), 19.90 (C_b-4), 31.99 (C-3), 63.44 (C-2), 68.16 (C-1'), 128.74, 128.84, 128.87 (C-3', C-4', C-5', C-6', C-7'), 135.08 (C-2'), 171.03 (C-1).

Synthese von *O*-Bn-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **86**



86

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Zu einer Lösung von *O*-Bn-L-Valin-isocyanat **155** (269 mg, 1.15 mmol) in abs. Tetrahydrofuran (8 mL) wurde eine Suspension von (*N*^ε-Boc)-L-Lysin **157** (252 mg, 1.02 mmol) in *N,N*-Dimethylformamid (10 mL) getropft und bei Raumtemperatur gerührt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit des (*N*^ε-Boc)-L-Lysins **157** wurde nach 1 h und 5 h erneut *N,N*-Dimethylformamid (je 5 mL) hinzugefügt. Nach insgesamt 21 h wurde die klare Reaktionsmischung mit Ethylacetat (150 mL) verdünnt und mit Salzsäure (4 x 100 mL, 0.5 M) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (80 g, 4.5 x 11 cm, DCM:EtOAc 60:40 → DCM:EtOAc:HCOOH 40:60:1) erhalten.

Ausbeute (86): 417 mg (870 μ mol, 76%) eines weißen Schaumes.

DC: $R_f = 0.36$ (DCM:EtOAc:HCOOH 40:60:1).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 $^\circ\text{C}$): $\delta = 0.86$ (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_a), 0.91 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_b), 1.35-1.42 (m, 2 H, 4-H), 1.41 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.43-1.50 (m, 2 H, 5-H), 1.67-1.76 (m, 1 H, 3-H_a), 1.80-1.88 (m, 1 H, 3-H_b), 2.05-2.14 (m, 1 H, 3'-H), 3.01-3.10 (m, 2 H, 6-H), 4.21-4.28 (m, 1 H, 2-H), 4.32-4.38 (m, 1 H, 2'-H), 4.66 (s, 1 H, 6-NH), 5.11 (d, $J = 12.4$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.17 (d, $J = 12.4$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 5.24 (s, 1 H, 2'-NH), 5.34 (s, 1 H, 2-NH), 7.24-7.35 (m, 5 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 $^\circ\text{C}$): $\delta = 18.05$ (C_a-4), 19.10 (C_b-4), 22.59 (C-4), 28.75 (OC(CH₃)₃), 29.91 (C-5), 31.25 (C-3), 31.54 (C-3'), 40.56 (C-6), 54.02 (C-2), 58.95 (C-2'), 67.14 (C-1''), 79.81 (OC(CH₃)₃), 128.36, 128.55, 128.79 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 135.88 (C-2''), 156.85 (NC(=O)N), 158.65 (Boc-C=O), 172.53 (C-1'), 173.74 (C-1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -5.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 60$ $^\circ\text{C}$.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3367, 2964, 2933, 1725, 1639, 1554, 1249, 1166, 1138, 697$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205$.

MS (ESI⁺): $m/z = 502.3$ [M+Na]⁺.

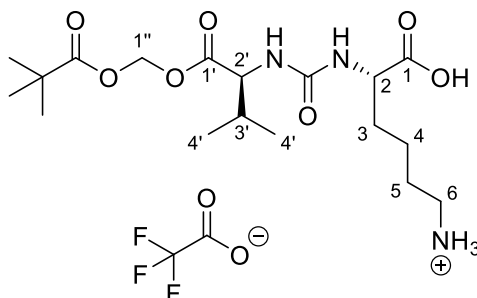
C₂₄H₃₇N₃O₇ (479.57)

ber.: 502.2524 [M+Na]⁺,

gef.: 502.2525 (ESI⁺-HRMS).

7.2.6.3 Synthese des vollständig entschützten POM-Ester-Harnstoffdipeptids **159** als Referenzverbindung

Synthese von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-L-lysin **159**



159

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **83** (14.0 mg, 27.8 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (1 mL) wurde mit Trifluoressigsäure (4 mL, 20% in Wasser) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (20 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten.

Ausbeute (159): 7.6 mg (15 μmol, 52%) eines farblosen viskosen Öls.

HPLC (analytisch): $t_R = 9.0$ min (Methode QC_grad_pos_acid_60_600, Injektionsvolumen: 20 μL (c ~ 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 10.7$ min (Methode DWP289, Injektionskonzentration: 33 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ = 0.87 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_a), 0.91 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H_b), 1.15 (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 1.37-1.48 (m, 2 H, 4-H), 1.61-1.75 (m, 3 H, 3-H_a, 5-H), 1.80-1.89 (m, 1 H, 3-H_b), 2.06-2.16 (m, 1 H, 3'-H), 2.96 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6-H), 4.11 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 2-H), 4.16 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.72 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.83 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 1''-H_b).

¹³C-NMR (126 MHz, D₂O): δ = 16.05 (C_a-4), 18.23 (C_b-4), 22.01 (C-4), 26.01 (C(=O)C(CH₃)₃), 26.21 (C-5), 29.85 (C-3'), 30.47 (C-3), 38.57 (C(=O)C(CH₃)₃), 39.20 (C-6), 52.94 (C-2), 58.73 (C-2'), 80.07 (C-1'), 159.52 (NC(=O)N), 173.37 (C-1'), 176.91 (C-1), 179.87 (C(=O)C(CH₃)₃).

¹⁹F-NMR (282 MHz, D₂O): δ = -75.59 (s, CF₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +44.0$ (c = 2.7, D₂O).

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2970, 2876, 1753, 1639, 1557, 1182, 1133, 1101, 981, 836, 799, 721.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI⁺): m/z = 404.2 [M+H]⁺.

C₁₈H₃₃N₃O₇ (403.47)

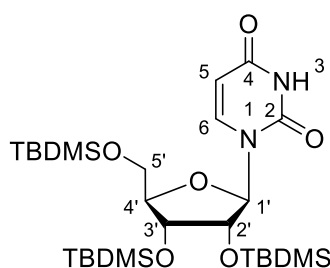
ber.: 404.2391 [M+H]⁺,

C₁₈H₃₃N₃O₇ · CF₃COOH (516.50)

gef.: 404.2399 (ESI⁺-HRMS).

7.2.7 Synthese des Uridin-5'-Aldehyds 35

7.2.7.1 Synthese von 2',3',5'-*O*-Tris-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin 160^[172]



160

Uridin **1** (10.0 g, 41.0 mmol) wurde mit abs. Pyridin (2 x 40 mL) coevaporiert. Eine Lösung des resultierenden weißen Feststoffes in abs. Pyridin (120 mL) wurde mit Imidazol (11.2 g, 164 mmol) und *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (19.8 g, 131 mmol) versetzt und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt, mit Wasser (20 mL) versetzt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der gelbliche Rückstand in Ethylacetat (400 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser (3 x 200 mL), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x 200 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (200 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (1.0 kg, 9.5 x 32 cm, PE:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute: (**160**): 22.5 g (38.3 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffes.

DC: R_f = 0.24 (PE:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): δ = -0.02 (s, 3 H, SiCH₃), 0.02 (s, 3 H, SiCH₃), 0.08 (s, 3 H, SiCH₃), 0.09 (s, 3 H, SiCH₃), 0.10 (s, 3 H, SiCH₃), 0.10 (s, 3 H, SiCH₃), 0.83 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 3.72 (dd, J = 11.5 Hz, J = 3.0 Hz, 1 H, 5'-H_a), 3.86 (dd, J = 11.5 Hz, J = 3.6 Hz, 1 H, 5'-H_b), 3.94 (ddd, J = 3.6 Hz,

$J = 3.2$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.07 (dd, $J = 4.4$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.22 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.62 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.81 (d, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 1'-H), 7.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 11.35 (s, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = -5.70$ (SiCH₃), -5.65 (SiCH₃), -5.09 (SiCH₃), -5.00 (SiCH₃), -4.88 (SiCH₃), -4.70 (SiCH₃), 17.49 (SiC(CH₃)₃), 17.62 (SiC(CH₃)₃), 17.92 (SiC(CH₃)₃), 25.46 (SiC(CH₃)₃), 25.59 (SiC(CH₃)₃), 25.69 (SiC(CH₃)₃), 62.26 (C-5'), 71.57 (C-3'), 74.36 (C-2'), 84.61 (C-4'), 86.86 (C-1'), 101.73 (C-5), 139.66 (C-6), 150.39 (C-2), 162.60 (C-4).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +4.1$ ($c = 1.2$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 90$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 1679, 1461, 1252, 1130, 1068, 869, 831, 775$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205, 261$.

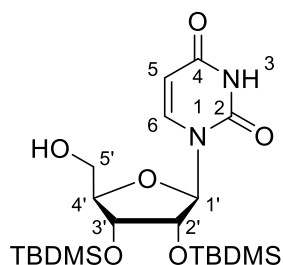
MS (ESI⁺): $m/z = 609.3$ [M+Na]⁺.

C₂₇H₅₄N₂O₆Si₃ (586.98)

ber.: 609.3182 [M+Na]⁺,

gef.: 609.3193 (ESI⁺-HRMS).

7.2.7.2 Synthese von 2',3'-*O*-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin **161**^[120]



161

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 2',3',5'-*O*-Tris-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin **160** (5.00 g, 8.52 mmol) in Tetrahydrofuran (85 mL) wurde Trifluoressigsäure (44 mL, 50% in Wasser) getropft und das Gemisch 6 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (400 mL) und festem Natriumcarbonat versetzt, bis sich ein pH-Wert von ~9 einstellte. Anschließend wurde Ethylacetat (600 mL) hinzugegeben, die organische Phase mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (200 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (200 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch

säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (300 g, 7.5 x 18 cm, DCM:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (161): 3.20 g (6.77 mmol, 80%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.26$ (DCM:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = -0.03$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.02 (s, 3 H, SiCH₃), 0.08 (s, 3 H, SiCH₃), 0.09 (s, 3 H, SiCH₃), 0.83 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 3.56 (ddd, $J = 12.1$ Hz, $J = 4.7$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 3.65 (ddd, $J = 12.1$ Hz, $J = 4.9$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 3.88 (ddd, $J = 3.8$ Hz, $J = 3.0$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.14 (dd, $J = 4.4$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.26 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.21 (dd, $J = 4.9$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, OH), 5.68 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.81 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 1'-H), 7.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = -4.56$ (SiCH₃), -4.38 (SiCH₃), -4.27 (SiCH₃), -4.15 (SiCH₃), 18.08 (SiC(CH₃)₃), 18.23 (SiC(CH₃)₃), 26.07 (SiC(CH₃)₃), 26.20 (SiC(CH₃)₃), 60.92 (C-5'), 72.43 (C-3'), 75.00 (C-2'), 86.02 (C-4'), 87.33 (C-1'), 102.50 (C-5), 140.83 (C-6), 151.24 (C-2), 163.43 (C-4).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -50.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 228$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3459, 2929, 2857, 1689, 1256, 1156, 1096, 867, 832, 773$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 204, 261$.

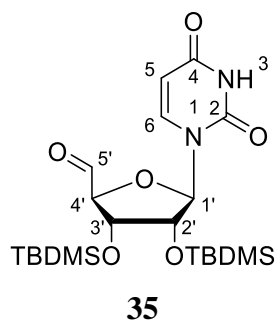
MS (ESI⁺): $m/z = 495.2$ [M+Na]⁺.

C₂₁H₄₀N₂O₆Si₂ (472.72)

ber.: 495.2317 [M+Na]⁺,

gef.: 495.2303 (ESI⁺-HRMS).

7.2.7.3 Synthese von 2',3'-*O*-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin-5'-aldehyd **35**^[195]



Eine Lösung von 2',3'-*O*-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin **161** (500 mg, 1.06 mmol) in abs. Acetonitril (10 mL) wurde mit IBX (743 mg, 2.65 mmol) versetzt und 1 h bei 80 °C gerührt. Es wurde auf 0 °C gekühlt, filtriert und der Rückstand mit Ethylacetat (50 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Die Reinheit der Zielverbindung (> 95%) wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie belegt. Aufgrund der generellen Instabilität wurde Verbindung **35** sofort in der direkt folgenden Reaktion eingesetzt. Nach ¹H-NMR-spektroskopischer Identifizierung wurde daher auf eine weiterführende Charakterisierung verzichtet.

Ausbeute (35): 495 mg (1.05 mmol, 99%) eines farblosen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 0.01 (s, 3 H, SiCH₃), 0.05 (s, 3 H, SiCH₃), 0.13 (s, 3 H, SiCH₃), 0.13 (s, 3 H, SiCH₃), 0.88 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 4.25 (dd, *J* = 4.1 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1 H, 3'-H), 4.32 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 4.1 Hz, 1 H, 2'-H), 4.54 (d, *J* = 3.3 Hz, 1 H, 4'-H), 5.75 (d, *J* = 5.6 Hz, 1 H, 1'-H), 5.79 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 7.66 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, 6-H), 7.97 (s, 1 H, NH), 9.82 (s, 1 H, 5'-H).

MS (ESI⁺): *m/z* = 493.2 [M+Na]⁺.

C₂₁H₃₈N₂O₆Si₂ (470.71)

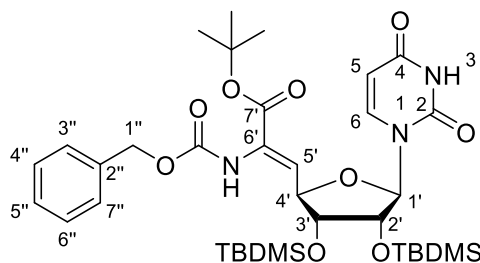
ber.: 493.2161 [M+Na]⁺,

gef.: 493.2160 (ESI⁺-HRMS).

7.2.8 Synthese von Uridin-abgeleiteten Nucleosyl-Aminosäuren

7.2.8.1 Synthese der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäuren

Synthese der Z-Didehydro-Aminosäure **45**^[140]



45

Zu einer auf -80 °C gekühlten Lösung von Kaliumhexamethyldisilazan (1.77 mL, 885 µmol, 0.5 M in Toluol) in abs. Tetrahydrofuran (7 mL) wurde Phosphonat **44** (330 mg, 859 µmol) in abs. Tetrahydrofuran (5 mL) gegeben und 10 min bei -80 °C gerührt. Bei -80 °C wurde eine Lösung von 2',3'-O-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin-5'-aldehyd **35** (500 mg, 1.06 mmol) in abs. Tetrahydrofuran (9 mL) hinzuge tropft, das Gemisch für 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die auf 0 °C gekühlte Reaktionsmischung wurde mit Methanol (5 mL) versetzt, mit Ethylacetat (200 mL) verdünnt, mit halbgesättigter wässriger Natriumchloridlösung (200 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (60 g, 4.5 x 11 cm, *iso*-Hex:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (45): 506 mg (0.705 mmol, 67%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.37$ (*iso*-Hex:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.08$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.09 (s, 3 H, SiCH₃), 0.09 (s, 3 H, SiCH₃), 0.11 (s, 3 H, SiCH₃), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 1.48 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 3.96 (dd, $J = 6.1$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.35 (dd, $J = 3.8$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 2'-H), 4.87 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 4'-H), 5.14 (s, 2 H, 1''-H), 5.59 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.72 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1 H, 5-H), 6.27 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, 5'-H), 6.70 (s, 1 H, 6'-NH), 7.26 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 7.30-7.37 (m, 5 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H), 8.09 (s, 1 H, 3-NH).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): $\delta = -4.66$ (SiCH₃), -4.61 (SiCH₃), -4.36 (SiCH₃), -4.25 (SiCH₃), 18.19 (SiC(CH₃)₃), 18.28 (SiC(CH₃)₃), 25.94 (SiC(CH₃)₃),

26.02 (SiC(CH₃)₃), 28.04 (OC(CH₃)₃), 67.71 (C-1''), 74.82 (C-2'), 76.28 (C-3'), 79.53 (C-4'), 82.85 (OC(CH₃)₃), 93.02 (C-1'), 102.50 (C-5), 124.81 (C-5'), 128.34, 128.49, 128.69 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 131.39 (C-6'), 135.96 (C-2''), 140.69 (C-6), 149.76 (C-2), 153.70 (Cbz-C=O), 162.59, 162.88 (C-4, C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +35.2$ ($c = 1.1$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 62$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2930, 2857, 1686, 1460, 1253, 1110, 1053, 983, 833, 775$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 256$.

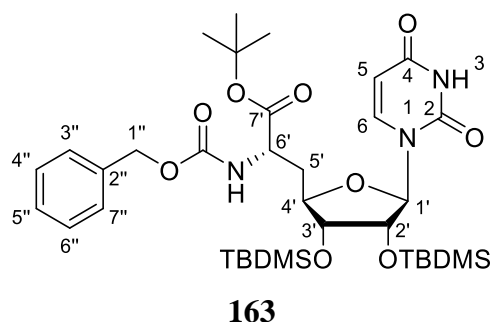
MS (ESI⁺): $m/z = 718.4$ [M+H]⁺.

C₃₅H₅₅N₃O₉Si₂ (718.00)

ber.: 718.3565 [M+H]⁺,

gef.: 718.3550 (ESI⁺-HRMS).

Synthese der (6'S)-N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163**



Eine Lösung der Z-Didehydro-Aminosäure **45** (480 mg, 669 μ mol) in abs. Methanol (15 mL) wurde mit (S,S)-Me-DUPHOS-Rh **46** (9.00 mg, 15.0 μ mol) versetzt und 3 d bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (60 g, 4.5 x 14 cm, *n*-Hex:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (163): 420 mg (0.583 mmol, 87%, *d.r.* > 98:2) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.24$ (*n*-Hex:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.00$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.04 (s, 3 H, SiCH₃), 0.13 (s, 3 H, SiCH₃), 0.16 (s, 3 H, SiCH₃), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.98 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 1.32 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 2.10 (ddd, $J = 14.2$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.25 (ddd, $J = 14.2$ Hz, $J = 7.7$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 3.75 (dd, $J = 4.9$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.37-4.43 (m, 2 H, 2'-H, 4'-H), 4.55-4.63 (m, 1 H, 6'-H), 5.01 (s, 2 H, 1''-H), 5.55 (d,

$J = 7.8$ Hz, 1 H, 5-H), 5.63 (d, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 6'-NH), 5.64 (s, 1 H, 1'-H), 6.97-7.23 (m, 6 H, 6-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H) 8.61 (s, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, C_6D_6): $\delta = -5.11$ (SiCH_3), -5.02 (SiCH_3), -4.69 (SiCH_3), -4.48 (SiCH_3), 17.86 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 17.88 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.66 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.73 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.49 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 36.26 (C-5'), 52.37 (C-6'), 66.66 (C-1''), 74.65 (C-2'), 75.61 (C-3'), 80.69 (C-4'), 81.89 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 92.28 (C-1'), 102.06 (C-5), 128.11, 128.17, 128.29 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 136.69 (C-2''), 140.37 (C-6), 150.02 (C-2), 155.48 (Cbz-C=O), 162.06 (C-4), 170.54 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +23.7$ ($c = 1.3$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 85$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 1686, 1252, 1154, 1056, 866, 835, 814, 775$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205, 261$.

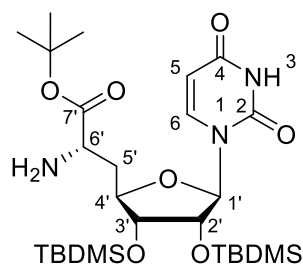
MS (ESI^+): $m/z = 742.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{35}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_9\text{Si}_2$ (720.01)

ber.: 742.3526 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 742.3527 (ESI^+ -HRMS).

Synthese der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43**



43

Variante 1:

Eine Lösung der (6'S)-*N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163** (50.0 mg, 69.0 μmol) in abs. Methanol (4 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (65.0 μL , 690 μmol) versetzt. Es wurde Palladium (10.0 mg, 9.40 μmol , 10% auf Aktivkohle) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (43): 40.0 mg (68.0 μmol , 99%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung der (6'S)-N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163** (47.0 mg, 65.3 μmol) in abs. *iso*-Propanol (4 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (66.0 μL , 708 μmol) versetzt. Es wurde Palladium (20.0 mg, 18.8 μmol , 10% auf Aktivkohle) hinzugegeben und 6 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 3 h erneut Palladium (20 mg, 18.8 μmol , 10% auf Aktivkohle) hinzugegeben wurde. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (43): 38.0 mg (65.3 μmol , 99%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 3:

Eine Lösung der (6'S)-N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163** (40.0 mg, 55.6 μmol) in abs. *iso*-Propanol (5 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (52.0 μL , 556 μmol) versetzt. Es wurde Palladium Black (10 mg, 87.5 μmol) hinzugegeben und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (43): 32.6 mg (55.6 μmol , quant.) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.14 (s, 3 H, SiCH_3), 0.91 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.94 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.48 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.87 (ddd, J = 14.1 Hz, J = 11.2 Hz, J = 5.4 Hz, 1 H, 5'- H_a), 2.11 (ddd, J = 14.1 Hz, J = 8.1 Hz, J = 2.6 Hz, 1 H, 5'- H_b), 3.56 (dd, J = 8.1 Hz, J = 5.4 Hz, 1 H, 6'-H), 3.91 (dd, J = 5.0 Hz, J = 4.6 Hz, 1 H, 3'-H), 4.14 (ddd, J = 11.2 Hz, J = 5.0 Hz, J = 2.6 Hz, 1 H, 4'-H), 4.33 (dd, J = 4.6 Hz, J = 4.2 Hz, 1 H, 2'-H), 5.74 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 5.77 (d, J = 4.2 Hz, 1 H, 1'-H), 7.65 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.47 (SiCH_3), -4.41 (SiCH_3), -4.38 (SiCH_3), -3.97 (SiCH_3), 18.87 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.40 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.47 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.34 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 39.23 (C-5'), 53.76 (C-6'), 75.88 (C-2'), 76.63 (C-3'), 82.82 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 82.89 (C-4'), 92.22 (C-1'), 102.99 (C-5), 142.78 (C-6), 152.14 (C-2), 166.01 (C-4), 174.76 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +63.2$ (c = 1.3, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 83$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2930, 2857, 1688, 1461, 1368, 1251, 1155, 835, 775, 673.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 261$.

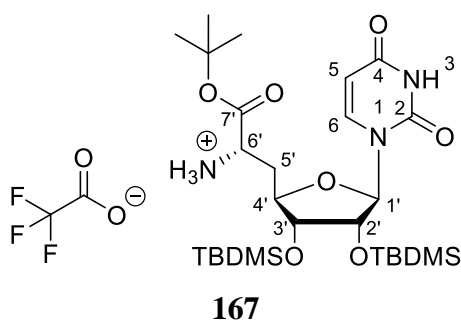
MS (ESI⁺): $m/z = 586.3$ [M+H]⁺.

C₂₇H₅₁N₃O₇Si₂ (585.88)

ber.: 586.3338 [M+H]⁺,

gef.: 586.3366 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des TFA-Salzes der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **167**



Variante 1:

Eine Lösung der (6'S)-N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163** (40.0 mg, 55.6 μmol) in abs. *iso*-Propanol (4 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (52.0 μL , 556 μmol) und Trifluoressigsäure (4.3 μL , 56 μmol , auf 1% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Es wurde Palladium (20.0 mg, 18.8 μmol , 10% auf Aktivkohle) hinzugegeben und 21 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 2 h erneut Palladium (20 mg, 18.8 μmol , 10% auf Aktivkohle) und nach 17 h erneut 1,4-Cyclohexadien (52.0 μL , 556 μmol) und Palladium (20 mg, 18.8 μmol , 10% auf Aktivkohle) hinzugegeben wurden. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (167): 38.9 mg (55.6 μmol , quant.) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung der (6'S)-N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **163** (20.0 mg, 29.2 μmol) in abs. *iso*-Propanol (2 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (27.2 μL , 292 μmol) und Trifluoressigsäure (2.3 μL , 29 μmol , auf 1% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Es wurde Palladium Black (10.0 mg, 87.8 μmol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (167): 20.5 mg (29.2 μmol , quant.) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.12 (s, 3 H, SiCH_3), 0.15 (s, 3 H, SiCH_3), 0.16 (s, 3 H, SiCH_3), 0.93 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.95 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.52 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.09 (ddd, J = 14.5 Hz, J = 11.6 Hz, J = 6.7 Hz, 1 H, 5'- H_a), 2.37 (ddd, J = 14.5 Hz, J = 6.8 Hz, J = 2.2 Hz, 1 H, 5'- H_b), 4.02 (dd, J = 5.9 Hz, J = 4.7 Hz, 1 H, 3'-H), 4.10 (dd, J = 6.8 Hz, J = 6.7 Hz, 1 H, 6'-H), 4.23 (ddd, J = 11.6 Hz, J = 5.9 Hz, J = 2.2 Hz, 1 H, 4'-H), 4.52 (dd, J = 4.7 Hz, J = 3.7 Hz, 1 H, 2'-H), 5.62 (d, J = 3.7 Hz, 1 H, 1'-H), 5.73 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 7.59 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.55 (SiCH_3), -4.41 (SiCH_3), -4.41 (SiCH_3), -3.94 (SiCH_3), 18.87 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.95 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.38 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.47 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.17 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 35.11 (C-5'), 52.92 (C-6'), 75.02 (C-2'), 76.35 (C-3'), 81.95 (C-4'), 85.61 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 95.12 (C-1'), 103.06 (C-5), 144.01 (C-6), 152.16 (C-2), 165.89 (C-4), 174.48 (C-7').

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CD_3OD): δ = -77.06 (s, CF_3).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -33.3 (c = 1.5, CHCl_3).

Schmelzpunkt: T_m = 91 $^\circ\text{C}$.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2930, 2857, 1675, 1462, 1371, 1253, 1156, 1136, 833, 776.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 259.

MS (ESI^+): m/z = 586.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

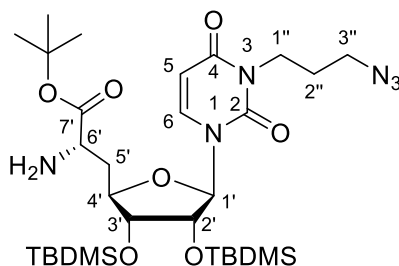
$\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}_2$ (585.88)

ber.: 586.3338 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

$\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}_2 \cdot \text{CF}_3\text{COOH}$ (699.91)

gef.: 586.3340 (ESI^+ -HRMS).

Synthese der Nucleobasen-alkylierten (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure 168



168

Eine Lösung der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** (20.0 mg, 34.1 μmol) in abs. Acetonitril (4 mL) wurde mit 3-Azidopropyl-*p*-toluolsulfonat **113**

(8.70 mg, 34.1 μmol) und Kaliumcarbonat (5.20 mg, 37.6 μmol) versetzt. Es wurde 19 h bei 80 °C gerührt und die Zielverbindung ohne weitere Aufarbeitung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (10 g, 1.5 x 12 cm, DCM:MeOH 99:1 \rightarrow 98:2) erhalten.

Ausbeute (168): 18.0 mg (26.9 μmol , 79%) eines farblosen Waxes.

DC: $R_f = 0.35$ (PE:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.07$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.89 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.46 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.77 (ddd, $J = 14.1$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}_a$), 1.92 (tt, $J = 7.0$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 2 H, $2''\text{-H}$), 2.16 (ddd, $J = 14.1$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}_b$), 3.35 (t, $J = 6.9$ Hz, 2 H, $3''\text{-H}$), 3.58 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, $6'\text{-H}$), 3.68 (dd, $J = 6.2$ Hz, $J = 4.2$ Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.02 (t, $J = 7.0$ Hz, 2 H, $1''\text{-H}$), 4.12 (dd, $J = 4.2$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1 H, $2'\text{-H}$), 4.18 (ddd, $J = 10.6$ Hz, $J = 6.2$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1 H, $4'\text{-H}$), 5.71 (d, $J = 3.1$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 5.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.74$ (SiCH_3), -4.62 (SiCH_3), -4.32 (SiCH_3), -4.00 (SiCH_3), 18.14 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.21 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.99 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.21 (C-2''), 28.16 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 38.50 (C-5'), 38.75 (C-1''), 49.48 (C-3''), 53.57 (C-6'), 75.23 (C-2'), 75.46 (C-3'), 81.57 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 81.68 (C-4'), 92.01 (C-1'), 101.89 (C-5), 137.99 (C-6), 150.75 (C-2), 162.72 (C-4), 174.29 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +55.6$ ($c = 1.8$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 2096, 1709, 1665, 1456, 1252, 1155, 836, 776$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 262$.

MS (ESI^+): $m/z = 669.4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

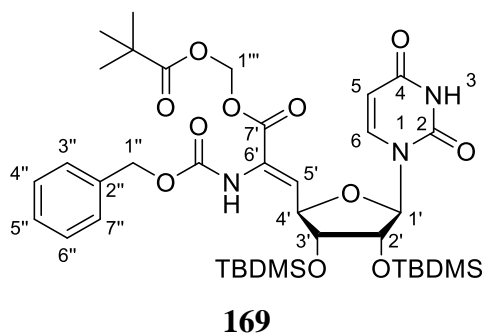
$\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{N}_6\text{O}_7\text{Si}_2$ (668.98)

ber.: 669.3822 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 669.3833 (ESI^+ -HRMS).

7.2.8.2 Synthese der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure 162

Synthese der POM-Ester-Z-didehydro-Aminosäure 169



Eine auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlte Lösung von Kaliumhexamethyldisilazan (0.28 mL, 190 μmol , 0.7 M in Toluol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit Phosphonat **79** (76.0 mg, 180 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) versetzt und 10 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde eine Lösung von 2',3'-O-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin-5'-aldehyd **35** (100 mg, 212 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (3 mL) zugetropft. Das Gemisch wurde 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit Methanol (5 mL) versetzt, mit Ethylacetat (40 mL) verdünnt, mit halbgesättigter wässriger Natriumchloridlösung (40 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 8.0 cm, iso-Hex:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute: (169): 103 mg (0.133 mmol, 75%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.17$ (iso-Hex:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.06$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.89 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.22 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3$), 3.98 (dd, $J = 6.1\text{ Hz}$, $J = 3.9\text{ Hz}$, 1 H, 3'-H), 4.35 (dd, $J = 3.9\text{ Hz}$, $J = 3.6\text{ Hz}$, 1 H, 2'-H), 4.88 (dd, $J = 7.4\text{ Hz}$, $J = 6.1\text{ Hz}$, 1 H, 4'-H), 5.14 (s, 2 H, 1''-H), 5.57 (d, $J = 3.6\text{ Hz}$, 1 H, 1'-H), 5.73 (dd, $J = 8.2\text{ Hz}$, $J = 2.3\text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 5.84 (s, 2 H, 1'''-H), 6.40 (d, $J = 7.4\text{ Hz}$, 1 H, 5'-H), 6.77 (s, 1 H, 6'-NH), 7.22 (d, $J = 8.2\text{ Hz}$, 1 H, 6-H), 7.32-7.38 (m, 5 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H), 8.23 (s, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.67$ (SiCH_3), -4.62 (SiCH_3), -4.33 (SiCH_3), -4.28 (SiCH_3), 18.16 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.22 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.92 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

abs. *iso*-Propanol (1.5 mL) zugegeben und weitere 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (162): 49.0 mg (64.0 μ mol, quant.) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung der (6'*S*)-*N*-Cbz-geschützten POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **170** (100 mg, 129 μ mol) in abs. *iso*-Propanol (3 mL) wurde mit Cyclohexadien (120 μ L, 1.29 mmol) und Trifluoressigsäure (10 μ L, 130 μ mol, auf 1% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Es wurde Palladium Black (20.0 mg, 175 μ mol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (4 x 6 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (162): 20.5 mg (29.2 μ mol, quant.) eines farblosen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ = 0.08 (s, 3 H, SiCH₃), 0.11 (s, 3 H, SiCH₃), 0.14 (s, 3 H, SiCH₃), 0.16 (s, 3 H, SiCH₃), 0.92 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.95 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 1.22 (s, 9 H, (CH₃)₃), 2.20 (ddd, J = 14.7 Hz, J = 11.6 Hz, J = 7.2 Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.40 (ddd, J = 14.7 Hz, J = 6.0 Hz, J = 2.3 Hz, 1 H, 5'-H_b), 4.04 (dd, J = 5.0 Hz, J = 4.8 Hz, 1 H, 3'-H), 4.22 (ddd, J = 11.6 Hz, J = 5.0 Hz, J = 2.3 Hz, 1 H, 4'-H), 4.34 (dd, J = 7.2 Hz, J = 6.0 Hz, 1 H, 6'-H), 4.55 (dd, J = 4.8 Hz, J = 4.5 Hz, 1 H, 2'-H), 5.64 (d, J = 4.5 Hz, 1 H, 1'-H), 5.74 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 5-H), 5.84 (d, J = 5.7 Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.88 (d, J = 5.7 Hz, 1 H, 1''-H_b), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CD₃OD): δ = -4.46 (SiCH₃), -4.40 (SiCH₃), -4.36 (SiCH₃), -4.01 (SiCH₃), 18.87 (SiC(CH₃)₃), 18.93 (SiC(CH₃)₃), 26.37 (SiC(CH₃)₃), 26.45 (SiC(CH₃)₃), 27.2 (C(CH₃)₃), 34.59 (C-5'), 39.78 (C(CH₃)₃), 52.43 (C-6'), 74.65 (C-2'), 76.43 (C-3'), 82.21 (C-1''), 82.35 (C-4'), 94.78 (C-1'), 103.17 (C-5), 144.17 (C-6), 152.21 (C-2), 165.85 (C-4), 169.11 (C-7'), 178.00 (C(=O)C(CH₃)₃).

¹⁹F-NMR (282 MHz, CD₃OD): δ = -76.98 (s, CF₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -26.7 (c = 1.5, CHCl₃).

Schmelzpunkt: T_m = 73 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2930, 2857, 1759, 1677, 1462, 1257, 1089, 834, 777, 721.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 259.

MS (ESI⁺): $m/z = 644.3$ [M+H]⁺.

C₂₉H₅₃N₃O₉Si₂ (643.93)

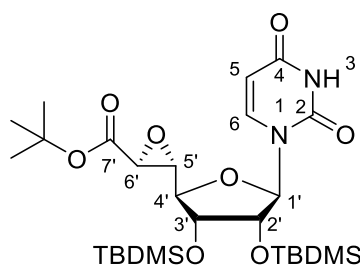
ber.: 644.3393 [M+H]⁺,

C₂₉H₅₃N₃O₉Si₂ · CF₃COOH (757.95)

gef.: 644.3398 (ESI⁺-HRMS).

7.2.8.3 Synthese der (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure 171

Synthese des Epoxy-*tert*-butylesters 104



104

Zur Synthese von Epoxy-*tert*-butylester **104** wurde zunächst das korrespondierende Schwefel-Ylid **173** aus dem *tert*-Butylester-Sulfonium-Salz **120** (546 mg, 2.12 mmol) generiert, wobei dieses zuvor in abs. THF (13 mL) suspendiert und unter Verwendung von frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) für 16 h unter Rühren getrocknet wurde. Anschließend erfolgte die Zugabe von Natriumhydrid (94.0 mg, 2.34 mmol) und das Reaktionsgemisch wurde für 3 h gerührt. Die Suspension wurde filtriert, der Rückstand mit THF (2 x 15 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Schwefel-Ylid **173** wurde im Vakuum getrocknet, in abs. DCM (2.5 mL) aufgenommen und langsam unter Rühren zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 2',3'-*O*-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin-5'-aldehyd **35** (219 mg, 464 µmol) in abs. DCM (5 mL) getropft. Es wurde für weitere 1.5 h bei 0 °C gerührt, mit Dichlormethan (20 mL) verdünnt und mit Wasser (20 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (20 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (45 g, 3.5 x 16 cm, *iso*-Hex:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute (104): 115 mg (197 µmol, 46%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.25$ (*iso*-Hex:EtOAc 80:20).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = -0.03$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.01 (s, 3 H, SiCH₃), 0.11 (s, 3 H, SiCH₃), 0.17 (s, 3 H, SiCH₃), 0.88 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.98 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 1.34 (s, 9 H,

OC(CH₃)₃), 3.41 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 5'-H), 3.63 (d, $J = 1.9$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.99 (dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.08 (dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.12 (dd, $J = 4.1$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.31 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 5-H), 5.96 (d, $J = 4.0$ Hz, 1 H, 1'-H), 7.42 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 8.42 (s, 1 H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): $\delta = -4.96$ (SiCH₃), -4.62 (SiCH₃), -4.37 (SiCH₃), -4.35 (SiCH₃), 18.23 (SiC(CH₃)₃), 18.28 (SiC(CH₃)₃), 25.94 (SiC(CH₃)₃), 26.04 (SiC(CH₃)₃), 27.85 (OC(CH₃)₃), 51.38 (C-6'), 56.89 (C-5'), 73.62 (C-3'), 75.70 (C-2'), 78.85 (C-4'), 82.56 (OC(CH₃)₃), 89.09 (C-1'), 102.82 (C-5), 138.43 (C-6), 150.41 (C-2), 162.11 (C-4), 167.06 (C-7).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +38.9$ ($c = 1.3$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 152$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2930, 2857, 1741, 1717, 1691, 1250, 1156, 1068, 832, 777$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 260$.

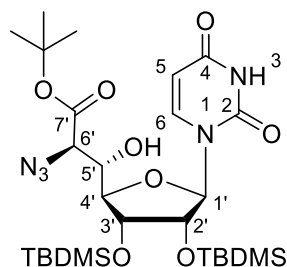
MS (ESI⁺): $m/z = 585.3$ [M+H]⁺.

C₂₇H₄₈N₂O₈Si₂ (584.86)

ber.: 585.3022 [M+H]⁺,

gef.: 585.3024 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohols **174**



174

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung des Epoxy-*tert*-butylesters **104** (81.0 mg, 140 μ mol) in abs. *N,N*-Dimethylformamid (8 mL) wurde mit Amberlyst[®] 15 (42.0 mg, 200 μ mol) und Tetrabutylammoniumazid (118 mg, 416 μ mol) versetzt und für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde filtriert und das Filtrat mit Diethylether (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde mit Wasser (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 8 x 3 cm, *iso*-Hex:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute (38): 65.0 mg (100 μ mol, 74%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.21$ (*iso*-Hex:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = -0.03$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.02 (s, 3 H, SiCH₃), 0.10 (s, 3 H, SiCH₃), 0.11 (s, 3 H, SiCH₃), 0.83 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 1.45 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 3.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.95-3.99 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 4.18 (dd, $J = 4.6$ Hz, $J = 2.6$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.25 (dd, $J = 6.1$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.72 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.84 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 1'-H), 6.28 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, OH), 7.95 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 11.37 (s, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = -4.57$ (SiCH₃), -4.39 (SiCH₃), -4.30 (SiCH₃), -4.10 (SiCH₃), 18.07 (SiC(CH₃)₃), 18.19 (SiC(CH₃)₃), 26.04 (SiC(CH₃)₃), 26.16 (SiC(CH₃)₃), 28.05 (OC(CH₃)₃), 63.55 (C-6'), 69.50 (C-5'), 73.16 (C-3'), 74.78 (C-2'), 82.92 (OC(CH₃)₃), 84.66 (C-4'), 87.42 (C-1'), 102.75 (C-5), 140.55 (C-6), 151.27 (C-2), 162.23 (C-4), 167.77 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +27.1$ ($c = 1.5$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 198$ °C (Zersetzung).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3327, 2929, 2857, 2104, 1695, 1246, 1148, 1112, 834, 774$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 260$.

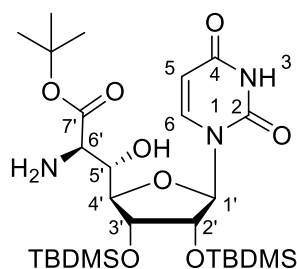
MS (ESI⁺): $m/z = 628.3$ [M+H]⁺.

C₂₇H₄₉N₅O₈Si₂ (627.89)

ber.: 628.3192 [M+H]⁺,

gef.: 628.3191 (ESI⁺-HRMS).

Synthese (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171**



171

Variante 1:

Eine Lösung des *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohols **174** (60.0 mg, 96.0 μmol) in abs. *iso*-Propanol (5 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (84.9 μL , 910 μmol) versetzt. Es wurde Palladium (40.0 mg, 38.0 μmol , 10% auf Aktivkohle) hinzugegeben und für 8.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert

und der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (171): 57.0 mg (95.0 μ mol, 99%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung des *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohols **174** (50.0 mg, 79.6 μ mol) in abs. *iso*-Propanol (4 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (74.0 μ L, 796 μ mol) versetzt. Es wurde Palladium Black (20.0 mg, 175 μ mol) hinzugegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (171): 47.9 mg (79.6 μ mol, quant.) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.16 (s, 3 H, SiCH_3), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.95 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.50 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 3.71 (d, J = 5.5 Hz, 1 H, 6'-H), 4.03 (dd, J = 5.4 Hz, J = 0.9 Hz, 1 H, 4'-H), 4.17 (dd, J = 5.5 Hz, J = 0.9 Hz, 1 H, 5'-H), 4.20 (dd, J = 5.4 Hz, J = 4.3 Hz, 1 H, 3'-H), 4.32 (dd, J = 4.3 Hz, J = 4.2 Hz, 1 H, 2'-H), 5.71 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 5.85 (d, J = 4.2 Hz, 1 H, 1'-H), 8.22 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.56 (SiCH_3), -4.50 (SiCH_3), -4.32 (SiCH_3), -4.04 (SiCH_3), 18.89 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.95 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.41 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.46 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.32 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 59.73 (C-6'), 70.44 (C-5'), 73.80 (C-3'), 76.28 (C-2'), 83.68 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 85.53 (C-4'), 90.82 (C-1'), 102.62 (C-5), 142.80 (C-6), 152.36 (C-2), 166.15 (C-4), 172.34 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +14.5$ (c = 1.4, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 98$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2929, 2856, 1681, 1460, 1253, 1158, 1061, 835, 776, 555.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205, 260$.

MS (ESI^+): $m/z = 602.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

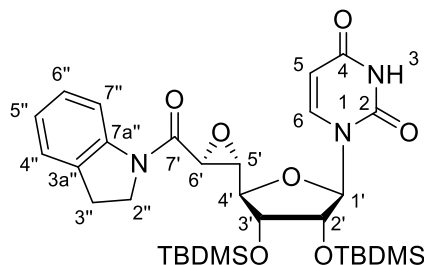
$\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}_2$ (601.89)

ber.: 602.3287 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 602.3290 (ESI^+ -HRMS).

7.2.8.4 Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäuren

Synthese des Epoxy-Indolinamids **34**

**34**

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von 2',3'-*O*-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin-5'-aldehyd **35** (250 mg, 319 µmol) in abs. Dichlormethan (6 mL) wurde mit (2'-(Indolin-1-yl)-2'-oxo-ethyl)-dimethylsulfoniumchlorid **36** (90.0 mg, 350 µmol) versetzt. Es wurde entgaste wässrige Natriumhydroxidlösung (71.0 µL, 350 µmol, 5 M) vorsichtig hinzuge tropft und das resultierende Gemisch 8 h bei 0 °C und 10 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (150 mL) verdünnt und mit halbges. wässriger Natriumchloridlösung (2 x 100 mL) gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (40 g, 3.0 x 17 cm, *n*-Pent:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (34): 150 mg (0.238 mmol, 75%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.12$ (*n*-Pent:EtOAc 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = -0.02$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.05 (s, 3 H, SiCH₃), 0.13 (s, 3 H, SiCH₃), 0.15 (s, 3 H, SiCH₃), 0.83 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 3.19 (dd, $J = 8.6$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 2 H, 3''-H), 3.57 (dd, $J = 2.3$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 5'-H), 3.86 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.18 (dd, $J = 2.3$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.21 (ddd, $J = 8.9$ Hz, $J = 8.4$ Hz, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 2''-H_a), 4.25 (dd, $J = 6.7$ Hz, $J = 4.2$ Hz, 1 H, 2'-H), 4.33 (ddd, $J = 8.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 2''-H_b), 4.43 (dd, $J = 4.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 3'-H), 5.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.91 (d, $J = 6.7$ Hz, 1 H, 1'-H), 7.04 (ddd, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, $J = 0.6$ Hz, 1 H, 6''-H), 7.18 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 5''-H), 7.28 (d, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 7''-H), 7.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 8.04 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, 4''-H), 11.40 (s, 1 H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): $\delta = -5.17$ (SiCH₃), -4.96 (SiCH₃), -4.76 (SiCH₃), -4.70 (SiCH₃), 17.56 (SiC(CH₃)₃), 17.68 (SiC(CH₃)₃), 25.50 (SiC(CH₃)₃),

25.66 (SiC(CH₃)₃), 27.48 (C-3''), 46.54 (C-2''), 50.82 (C-6'), 56.78 (C-5'), 73.19 (C-3'), 73.70 (C-2'), 80.98 (C-4'), 86.46 (C-1'), 102.72 (C-5), 116.02 (C-4''), 123.91 (C-6''), 124.91 (C-7''), 127.02 (C-5''), 131.78 (C-7a''), 139.75 (C-6), 142.45 (C-3a''), 150.77 (C-2), 162.79 (C-4), 164.33 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +71.0$ (c = 1.6, CHCl₃).

Schmelzpunkt: T_m = 212 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2929, 2856, 1692, 1561, 1253, 1165, 1070, 833, 777, 673.

UV/VIS (MeCN): λ_{\max} = 202, 259, 292.

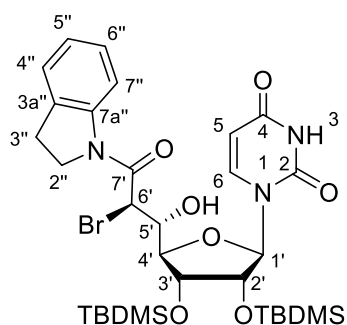
MS (ESI⁺): m/z = 630.3 [M+H]⁺.

C₃₁H₄₇N₃O₇Si₂ (629.90)

ber.: 630.3025 [M+H]⁺,

gef.: 630.3026 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Bromids 177



177

Eine Lösung des Epoxy-Indolinamids **34** (329 mg, 522 μ mol) in abs. Dichlormethan (10 mL) wurde mit Tetrabutylammoniumbromid (674 mg, 2.09 mmol) und Amberlyst[®] 15 (329 mg, 1.57 mmol) versetzt und 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut Amberlyst[®] 15 (165 mg, 785 μ mol) zugegeben und weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert, der Rückstand mit Dichlormethan (3 x 50 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (45 g, 3.5 x 11 cm, DCM:EtOAc 95:5) erhalten.

Ausbeute (177): 291 mg (409 μ mol, 78%) eines farblosen Feststoffes.

DC: R_f = 0.30 (DCM:EtOAc 90:10).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, 35 °C): δ = -0.08 (s, 3 H, SiCH₃), 0.00 (s, 3 H, SiCH₃), 0.12 (s, 3 H, SiCH₃), 0.14 (s, 3 H, SiCH₃), 0.82 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.93 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃),

3.16-3.24 (m, 2 H, 3''-H), 4.14 (ddd, $J = 10.2$ Hz, $J = 9.9$ Hz, $J = 7.8$ Hz, 1 H, 2''-H_a), 4.18 (ddd, $J = 10.2$ Hz, $J = 10.0$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1 H, 2''-H_b), 4.21 (dd, $J = 4.7$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.25 (ddd, $J = 9.9$ Hz, $J = 6.7$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, 5'-H), 4.29 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, 2'-H), 4.44 (dd, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.53 (d, $J = 9.9$ Hz, 1 H, 6'-H), 5.83 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 5-H), 5.95 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H, 1'-H), 6.62 (d, $J = 6.7$ Hz, 1 H, OH), 7.07 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1 H, 6''-H), 7.20 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 5''-H), 7.29 (d, $J = 6.9$ Hz, 1 H, 7''-H), 7.92 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 8.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 4''-H), 11.39 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, NH).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6 , 35 °C): $\delta = -5.26$ (SiCH₃), -4.78 (SiCH₃), -4.76 (SiCH₃), -4.66 (SiCH₃), 17.56 (SiC(CH₃)₃), 17.75 (SiC(CH₃)₃), 25.50 (SiC(CH₃)₃), 25.67 (SiC(CH₃)₃), 27.22 (C-3''), 44.14 (C-6'), 47.82 (C-2''), 70.14 (C-5'), 73.42 (C-3'), 74.36 (C-2'), 84.86 (C-4'), 86.00 (C-1'), 102.88 (C-5), 116.42 (C-4''), 124.25 (C-6''), 124.99 (C-7''), 127.02 (C-5''), 132.41 (C-7a''), 139.70 (C-6), 142.31 (C-3a''), 150.84 (C-2), 162.84 (C-4), 165.37 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -71.4$ ($c = 1.4$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 245$ °C (Zersetzung).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2856, 1685, 1419, 1253, 1161, 1100, 832, 775, 753$.

UV/VIS (MeCN): λ_{\max} ($\lg \epsilon$) = 203, 262, 293.

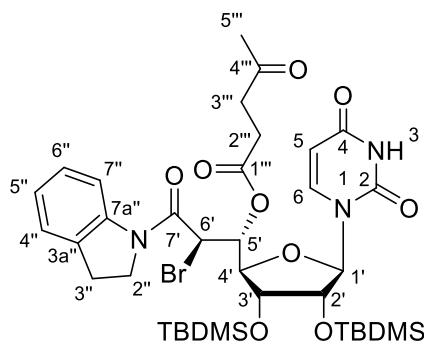
MS (ESI⁺): $m/z = 710.2$ [M+H]⁺.

C₃₁H₄₈BrN₃O₇Si₂ (710.81)

ber.: 710.2287 [M+H]⁺,

gef.: 710.2285 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Lävulinyl-geschützten Bromids 178



178

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von Lävulinsäure (204 μL , 1.99 mmol) in abs. Dichlormethan (15 mL) wurde mit 4-Dimethylaminopyridin (243 mg, 1.99 mmol) versetzt und 5 min bei 0 °C gerührt. Es wurde *N,N*-Di-*iso*-propylcarbodiimid (309 μL , 1.99 mmol) zugegeben und

20 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Bromid **177** (565 mg, 795 µmol) in abs. Dichlormethan (10 mL) versetzt und 3 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan (100 mL) verdünnt, mit Wasser (100 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Dichlormethan (100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (60 g, 4.5 x 13 cm, DCM:EtOAc 90:10 → 85:15) erhalten.

Ausbeute (178): 619 mg (765 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.19$ (DCM:EtOAc 90:10).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = -0.02$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.04 (s, 3 H, SiCH₃), 0.10 (s, 3 H, SiCH₃), 0.13 (s, 3 H, SiCH₃), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 2.07 (s, 3 H, 5'''-H), 2.38 (ddd, $J = 16.6$ Hz, $J = 5.4$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 2'''-H_a), 2.47 (ddd, $J = 16.6$ Hz, $J = 10.1$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, 2'''-H_b), 2.60 (ddd, $J = 18.8$ Hz, $J = 5.4$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, 3'''-H_a), 2.95 (ddd, $J = 18.8$ Hz, $J = 10.1$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 3'''-H_b), 3.20-3.32 (m, 2 H, 3''-H), 4.07 (ddd, $J = 10.0$ Hz, $J = 9.6$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 2''-H_a), 4.11-4.19 (m, 2 H, 2'-H, 3'-H), 4.29 (ddd, $J = 10.0$ Hz, $J = 9.7$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, 2''-H_b), 4.63 (d, $J = 10.1$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.68 (dd, $J = 1.5$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 4'-H), 5.76 (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, 5'-H), 5.79 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1 H, 5-H), 6.10 (d, $J = 6.9$ Hz, 1 H, 1'-H), 7.08 (ddd, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1 H, 6''-H), 7.17-7.24 (m, 2 H, 5''-H, 7''-H), 7.64 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 8.04 (s, 1 H, NH), 8.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 4''-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): $\delta = -4.90$ (SiCH₃), -4.43 (SiCH₃), -4.35 (SiCH₃), -4.32 (SiCH₃), 18.08 (SiC(CH₃)₃), 18.15 (SiC(CH₃)₃), 25.84 (SiC(CH₃)₃), 26.03 (SiC(CH₃)₃), 28.14 (C-3''), 28.37 (C-2''), 29.46 (C-5''), 38.15 (C-3'''), 41.70 (C-6'), 48.18 (C-2''), 72.22 (C-3'), 72.77 (C-5'), 74.49 (C-2'), 84.48 (C-4'), 87.16 (C-1'), 103.20 (C-5), 117.64 (C-4''), 124.95 (C-6'', C-7''), 127.87 (C-5''), 131.65 (C-7a''), 140.21 (C-6), 142.64 (C-3a''), 150.35 (C-2), 162.53 (C-4), 164.29 (C-7'), 171.53 (C-1'''), 206.32 (C-4''').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +47.8$ (c = 2.3, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 108$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2856, 1693, 1662, 1416, 1254, 1085, 833, 777, 754$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 203, 262, 293$.

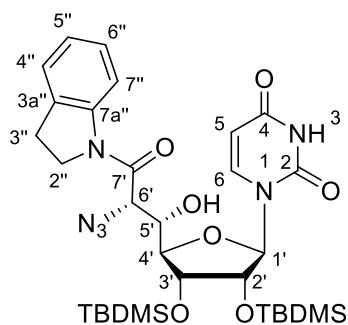
MS (ESI⁺): $m/z = 830.2$ [M+Na]⁺.

C₃₆H₅₄BrN₃O₉Si₂ (808.91)

ber.: 830.2474 [M+Na]⁺,

gef.: 830.2485 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Azido-Indolinamids **37**

**37**

Eine Lösung des Lävulinyl-geschützten Bromids **178** (985 mg, 1.22 mmol) in abs. *N,N*-Dimethylformamid (25 mL) wurde mit Tetrabutylammoniumazid (1.39 g, 4.87 mmol) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Hydrazinacetat (346 mg, 3.76 mmol) in abs. Methanol (5 mL) zugegeben und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Diethylether (250 mL) verdünnt, mit Wasser (4 x 150 mL) gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (95 mg, 4.5 x 16 cm, DCM:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (37): 770 mg (1.14 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.31$ (DCM:EtOAc 90:10).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.04$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.07 (s, 3 H, SiCH_3), 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.85 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 3.17-3.31 (m, 2 H, 3''-H), 3.94 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.11 (dd, $J = 3.1$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.16 (ddd, $J = 10.2$ Hz, $J = 10.1$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, 2''-H_a), 4.20-4.27 (m, 2 H, 3'-H, 2''-H_b), 4.33 (ddd, $J = 7.4$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, 5'-H), 4.38 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, OH), 4.51 (dd, $J = 5.6$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.57 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.76 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, 5-H), 7.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 6''-H), 7.20-7.25 (m, 2 H, 5''-H, 7''-H), 7.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 8.21 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 4''-H), 8.58 (d, $J = 1.5$ Hz, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.74$ (SiCH_3), -4.52 (SiCH_3), -4.49 (SiCH_3), -4.37 (SiCH_3), 18.10 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.20 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.90 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.98 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.15 (C-3''), 48.28 (C-2''), 62.79 (C-6'), 71.58 (C-5'), 73.07 (C-3'), 73.46 (C-2'), 86.06 (C-4'), 93.16 (C-1'), 102.60 (C-5), 117.81 (C-4''), 124.94 (C-7'').

125.12 (C-6''), 127.84 (C-5''), 131.89 (C-7a''), 142.15 (C-3a''), 142.63 (C-6), 150.39 (C-2), 162.56 (C-4), 165.95 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +91.3$ ($c = 2.3$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 145$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 2107, 1689, 1662, 1253, 1161, 1118, 833, 775$.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 202, 259, 293.

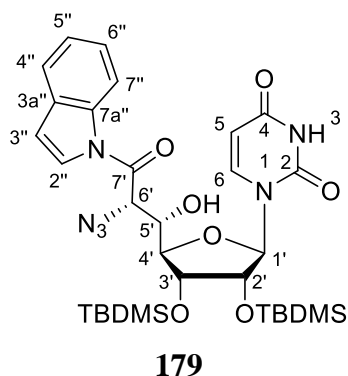
MS (ESI⁺): $m/z = 673.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

C₃₁H₄₈N₆O₇Si₂ (672.93)

ber.: 673.3196 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 673.3194 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Azido-Indolamids **179**



Eine Lösung des Azido-Indolinamids **37** (828 mg, 1.23 mmol) in abs. Benzol (40 mL) und abs. Acetonitril (40 mL) wurde mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-*p*-benzoquinon (1.40 g, 6.15 mmol) versetzt und 3.5 d am Rückfluss erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur gekühlt, mit Dichlormethan (250 mL) verdünnt, mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x 150 mL) gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (80 g, 4.5 x 14 cm, DCM:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (179): 745 mg (0.707 mmol, 90%) eines blass rosafarbenen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.31$ (DCM:EtOAc 90:10).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = -0.04$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.04 (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.82 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.86 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 4.15 (dd, $J = 2.0$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.22 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.33 (ddd, $J = 9.0$ Hz, $J = 7.2$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, 5'-H), 4.53 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, OH), 4.57 (d,

$J = 7.2$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.66 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.29 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.71 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1 H, 5-H), 6.69 (dd, $J = 3.9$ Hz, $J = 0.4$ Hz, 1 H, 3''-H), 7.31 (ddd, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 6''-H), 7.35 (ddd, $J = 8.1$ Hz, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 5''-H), 7.41 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 7.49 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H, 2''-H), 7.58 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 7''-H), 7.95 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H, NH), 8.41 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 4''-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.93$ (SiCH_3), -4.54 (SiCH_3), -4.44 (SiCH_3), -4.44 (SiCH_3), 18.04 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.15 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.85 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.91 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 63.15 (C-6'), 72.08 (C-5'), 72.15 (C-2'), 73.46 (C-3'), 86.08 (C-4'), 95.57 (C-1'), 102.72 (C-5), 110.72 (C-3''), 116.91 (C-4''), 121.17 (C-6''), 124.86 (C-7''), 124.89 (C-2''), 125.67 (C-5''), 130.78 (C-7a''), 135.91 (C-3a''), 143.78 (C-6), 150.36 (C-2), 162.11 (C-4), 166.73 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +71.4$ ($c = 1.1$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 121$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 2110, 1681, 1453, 1254, 1159, 833, 776, 749$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 248, 301$.

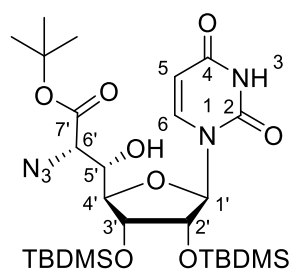
MS (ESI^+): $m/z = 671.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_7\text{Si}_2$ (670.91)

ber.: 671.3039 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 671.3039 (ESI^+ -HRMS).

Synthese des *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohols 180



180

Eine Lösung des Azido-Indolamids **179** (145 mg, 216 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (8 mL) wurde mit entgaster wässriger Lithiumhydroxidlösung (4.50 mL, 450 μmol , 0.1 M) versetzt und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut entgaste wässrige Lithiumhydroxidlösung (2.00 mL, 200 μmol , 0.1 M) hinzugegeben und weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf ges. wässrige Ammoniumchloridlösung (80 mL) gegeben, die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 40 mL)

extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Der resultierende gelbliche, viskose Rückstand wurde in abs. Dichlormethan (10 mL) gelöst und vorsichtig mit *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (210 μ L, 1.12 mmol) versetzt. Es wurde 11 d bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 4 d und 7 d erneut *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (2 x 210 μ L, 1.12 mmol) zugegeben wurde. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (100 mL) verdünnt, mit Wasser (3 x 100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (30 g, 3.0 x 13 cm, DCM:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (180): 63.0 mg (100 μ mol, 46%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.17$ (DCM:EtOAc 90:10).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.04$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.06 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.87 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.50 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 3.73 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, OH), 3.94 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.94-3.99 (m, 1 H, 5'-H), 4.10 (dd, $J = 3.8$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.16 (dd, $J = 4.6$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.46 (dd, $J = 5.1$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.56 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.74 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 5-H), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 8.71 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.68$ (SiCH_3), -4.65 (SiCH_3), -4.52 (SiCH_3), -4.26 (SiCH_3), 18.09 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.18 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.92 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.95 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.08 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 65.14 (C-6'), 70.65 (C-5'), 72.74 (C-3'), 73.69 (C-2'), 84.05 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 84.72 (C-4'), 93.11 (C-1'), 102.44 (C-5), 142.50 (C-6), 150.43 (C-2), 162.99 (C-4), 167.44 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = 30.0$ ($c = 0.3$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 210$ °C (Zersetzung).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2928, 2856, 2111, 1715, 1691, 1255, 1157, 1097, 832, 779$..

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 260$.

MS (ESI^+): $m/z = 628.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{27}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_8\text{Si}_2$ (627.89)

ber.: 628.3192 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 628.3191 (ESI^+ -HRMS).

Ausbeute (172): 19.2 mg (32.0 μmol , quant.) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.06 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.14 (s, 3 H, SiCH_3), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.94 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.49 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 3.46 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, 6'-H), 3.75 (dd, J = 7.4 Hz, J = 1.3 Hz, 1 H, 5'-H), 4.10 (dd, J = 4.2 Hz, J = 1.3 Hz, 1 H, 4'-H), 4.21 (dd, J = 4.5 Hz, J = 4.2 Hz, 1 H, 3'-H), 4.39 (dd, J = 5.1 Hz, J = 4.5 Hz, 1 H, 2'-H), 5.72 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 5.90 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 1'-H), 8.16 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.48 (SiCH_3), -4.48 (SiCH_3), -4.37 (SiCH_3), -4.07 (SiCH_3), 18.90 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.42 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.42 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.31 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 58.97 (C-6'), 72.39 (C-5'), 74.50 (C-3'), 76.43 (C-2'), 82.94 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 87.13 (C-4'), 90.34 (C-1'), 102.93 (C-5), 142.85 (C-6), 152.86 (C-2), 166.21 (C-4), 173.68 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +10.0$ (c = 1.0, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 117^\circ\text{C}$.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2929, 2856, 1685, 1461, 1257, 1157, 1060, 834, 776, 557.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 261$.

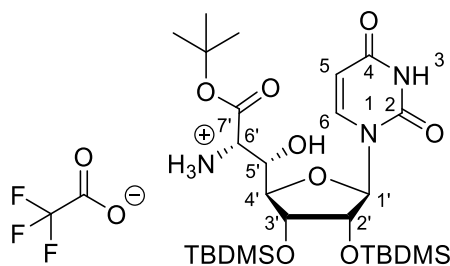
MS (ESI^+): $m/z = 602.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}_2$ (601.89)

ber.: 602.3287 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 602.3288 (ESI^+ -HRMS).

Synthese des TFA-Salzes der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure 176



176

Eine Lösung des *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohols **180** (10.0 mg, 15.9 μmol) in abs. *iso*-Propanol (2 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (15.0 μL , 159 μmol) und Trifluoressigsäure (1.2 μL , 16 μmol , auf 1% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Palladium (10.0 mg, 56.0 μmol , 10% auf Aktivkohle) wurde hinzugegeben und 4 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 2 h erneut Palladium (10.0 mg, 56.0 μmol , 10% auf Aktivkohle)

hinzugegeben wurde. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute: (176): 10.2 mg (14.2 μ mol, 89%) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.07 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.16 (s, 3 H, SiCH_3), 0.16 (s, 3 H, SiCH_3), 0.91 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.95 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.55 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 4.19 (d, J = 4.2 Hz, 1 H, 6'-H), 4.23 (dd, J = 4.5 Hz, J = 3.8 Hz, 1 H, 3'-H), 4.26 (dd, J = 3.8 Hz, J = 1.0 Hz, 1 H, 4'-H), 4.31 (dd, J = 4.2 Hz, J = 1.0 Hz, 1 H, 5'-H), 4.39 (dd, J = 5.2 Hz, J = 4.5 Hz, 1 H, 2'-H), 5.74 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 5.95 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 1'-H), 8.05 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.54 (SiCH_3), -4.45 (SiCH_3), -4.36 (SiCH_3), -4.03 (SiCH_3), 18.88 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.92 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.37 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.37 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.17 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 58.03 (C-6'), 68.50 (C-5'), 73.99 (C-3'), 75.99 (C-2'), 85.93 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 88.15 (C-4'), 90.58 (C-1'), 103.23 (C-5), 142.71 (C-6), 152.49 (C-2), 165.94 (C-4), 167.73 (C-7').

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CD_3OD): δ = -76.91 (s, CF_3).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -28.6 (c = 1.1, CHCl_3).

Schmelzpunkt: T_m = 80 $^\circ\text{C}$.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2930, 2857, 1673, 1463, 1255, 1157, 1135, 834, 777, 721.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 260.

MS (ESI^+): m/z = 602.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

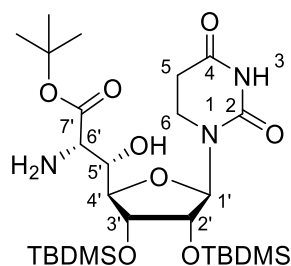
$\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}_2$ (601.89)

ber.: 602.3287 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

$\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}_2 \cdot \text{CF}_3\text{COOH}$ (715.91)

gef.: 602.3289 (ESI^+ -HRMS).

Synthese der Nucleobasen-hydrierten (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure 175

**175**

Eine Lösung des *tert*-Butylester-geschützten Azidoalkohols **180** (35.0 mg, 56.0 μmol) in abs. *iso*-Propanol (5 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt, mit Palladium Black (60 mg, 560 μmol) versetzt und anschließend 9.5 h unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert, der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (8 g, 1.5 x 10 cm, DCM:MeOH 98:2 \rightarrow 96:4) erhalten.

Ausbeute (175): 28.0 mg (46.0 μmol , 83%) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.14 (s, 3 H, SiCH_3), 0.14 (s, 3 H, SiCH_3), 0.92 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.94 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.49 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.57-2.69 (m, 2 H, 5-H), 3.46-3.53 (m, 1 H, 6- H_a), 3.48 (d, J = 6.6 Hz, 1 H, 6'-H), 3.68-3.73 (m, 1 H, 6- H_b), 3.74 (dd, J = 6.6 Hz, J = 1.4 Hz, 1 H, 5'-H), 3.95 (dd, J = 3.7 Hz, J = 1.4 Hz, 1 H, 4'-H), 4.18 (dd, J = 5.1 Hz, J = 3.7 Hz, 1 H, 3'-H), 4.36 (dd, J = 5.5 Hz, J = 5.1 Hz, 1 H, 2'-H), 5.81 (d, J = 5.5 Hz, 1 H, 1'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.38 (SiCH_3), -4.32 (SiCH_3), -4.01 (SiCH_3), -4.01 (SiCH_3), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.43 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.45 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.31 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 31.95 (C-5), 38.64 (C-6), 58.99 (C-6'), 72.38 (C-5'), 73.80 (C-3'), 74.83 (C-2'), 82.92 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 86.16 (C-4'), 90.78 (C-1'), 155.19 (C-2), 172.70 (C-4), 173.50 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -27.3$ (c = 1.1, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 143$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2927, 2855, 1706, 1366, 1250, 1146, 1036, 877, 834, 775.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI⁺): $m/z = 604.3$ [M+H]⁺.

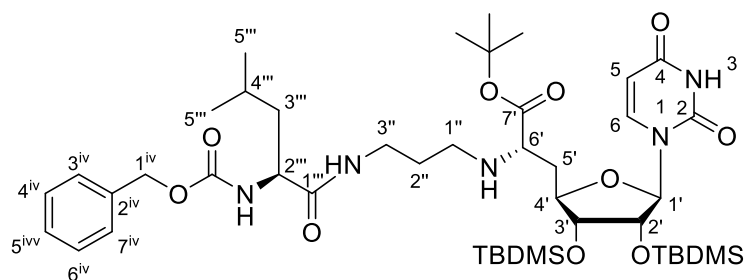
C₂₇H₅₃N₃O₈Si₂ (603.90)

ber.: 604.3444 [M+H]⁺,

gef.: 604.3448 (ESI⁺-HRMS).

7.2.9 Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 76

7.2.9.1 Synthese der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure 181



181

Variante 1:

Eine Lösung des TFA-Salzes der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **167** (18.0 mg, 25.7 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (3 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-leucinamid **88** (9.00 mg, 28.3 μ mol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (8.74 μ L, 51.4 μ mol) versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Amberlyst[®] 15 (1.20 mg, 5.65 μ mol) und Natriumtriacetoxyborhydrid (11.0 mg, 51.4 μ mol) hinzugegeben und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (70 mL) versetzt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumcarbonatlösung (50 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (6 g, 1.5 x 7.0 cm, DCM:MeOH 97.5:2.5) erhalten.

Ausbeute (181): 16.0 mg (18.0 μ mol, 70%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung der (6'*S*)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** (80.0 mg, 137 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (6 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde

mit 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-leucinamid **88** (47.0 mg, 147 μ mol) versetzt und 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Amberlyst® 15 (6.60 mg, 31.4 μ mol) und Natriumtriacetoxymborhydrid (59.0 mg, 280 μ mol) hinzugegeben und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (100 mL) versetzt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumcarbonatlösung (70 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.5 x 11 cm, DCM:MeOH 97.3:2.7) erhalten.

Ausbeute (181): 88.0 mg (98.8 μ mol, 72%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.24$ (DCM:MeOH 95:5).

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): $\delta = 0.08$ (s, 3 H, SiCH₃), 0.10 (s, 3 H, SiCH₃), 0.12 (s, 3 H, SiCH₃), 0.13 (s, 3 H, SiCH₃), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.89-0.96 (m, 6 H, 5'''-H), 0.93 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 1.48 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.54 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 2 H, 3'''-H), 1.62-1.72 (m, 3 H, 2''-H, 4'''-H), 1.87-1.95 (m, 1 H, 5'-H_a), 2.00-2.07 (m, 1 H, 5'-H_b), 2.50-2.57 (m, 1 H, 1''-H_a), 2.59-2.66 (m, 1 H, 1''-H_b), 3.19-3.29 (m, 2 H, 3''-H), 3.31-3.36 (m, 1 H, 6'-H), 3.90 (dd, $J = 4.6$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.04-4.13 (m, 2 H, 4'-H, 2'''-H), 4.34 (dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.07 (d, $J = 12.7$ Hz, 1 H, 1^{iv}-H_a), 5.10 (d, $J = 12.7$ Hz, 1 H, 1^{iv}-H_b), 5.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.77 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 1'-H), 7.26-7.37 (m, 5 H, 3^{iv}-H, 4^{iv}-H, 5^{iv}-H, 6^{iv}-H, 7^{iv}-H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CD₃OD): $\delta = -4.41$ (SiCH₃), -4.40 (SiCH₃), -4.40 (SiCH₃), -3.99 (SiCH₃), 18.86 (SiC(CH₃)₃), 18.93 (SiC(CH₃)₃), 22.00 (C_a-5'''), 23.43 (C_b-5'''), 25.93 (C-4'''), 26.40 (SiC(CH₃)₃), 26.46 (SiC(CH₃)₃), 28.47 (OC(CH₃)₃), 30.37 (C-2''), 38.07 (C-5'), 38.30 (C-3'''), 42.28 (C-3'''), 46.13 (C-1''), 55.20 (C-2'''), 60.72 (C-6'), 67.71 (C-1^{iv}), 75.84 (C-2'), 76.61 (C-3'), 82.65 (OC(CH₃)₃), 82.89 (C-4'), 91.87 (C-1'), 103.07 (C-5), 128.85 (C-3^{iv}, C-7^{iv}), 129.02 (C-5^{iv}), 129.47 (C-4^{iv}, C-6^{iv}), 138.17 (C-2^{iv}), 142.74 (C-6), 152.12 (C-2), 158.35 (Cbz-C=O), 165.97 (C-4), 174.77, 175.42 (C-7', C-1''').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +12.5$ (c = 1.6, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 69$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2928, 2855, 1686, 1458, 1255, 1153, 1043, 836, 776, 696$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 261$.

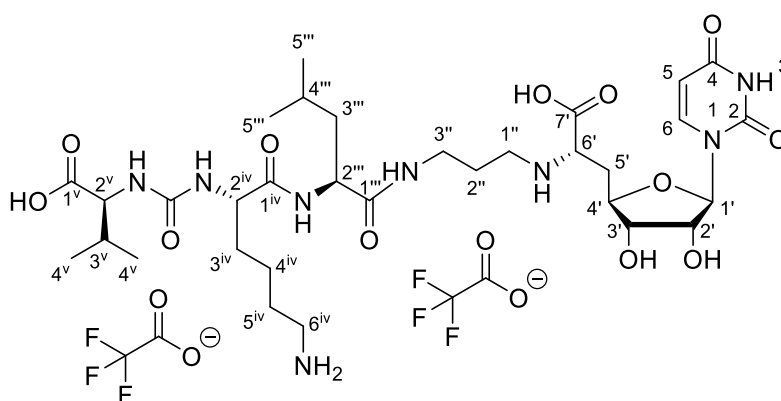
MS (ESI⁺): $m/z = 890.5$ [M+H]⁺.

C₄₄H₇₅N₅O₁₀Si₂ (890.28)

ber.: 890.5125 [M+H]⁺,

gef.: 890.5129 (ESI⁺-HRMS).

7.2.9.2 Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 76



76

Eine Lösung der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **181** (29.0 mg, 32.6 µmol) in abs. *iso*-Propanol (3 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (30.4 µL, 326 µmol) versetzt. Es wurde Palladium Black (20.0 mg, 188 µmol) hinzugegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert, dieser mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Eine Lösung von *O*-*tert*-Butyl-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^c-Boc)-L-lysin **85** (16.9 mg, 38.0 µmol) in abs. Tetrahydrofuran (3.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (5.10 mg, 38.0 µmol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (19.8 mg, 38.0 µmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (13.0 µL, 75.9 µmol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des farblosen Feststoffes in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) hinzuge tropft, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der farblose Feststoff säulenchromatographisch an Kieselgel (18 g, 2.0 x 12 cm, DCM:MeOH 97:3 → 96:4) gereinigt.

Die nachfolgende Reaktion der Synthesesequenz wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Der resultierende farblose Feststoff wurde mit Trifluoressigsäure (9.0 mL, 80% in Wasser) versetzt und 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (30 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten.

Ausbeute (76): 15.6 mg (16.1 μ mol, 49%, über 3 Stufen von **181**) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (analytisch): $t_R = 7.0$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μ L (c \sim 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 15.2$ min (Methode DWP315, Injektionskonzentration: 19 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 0.84$ (d, $J = 6.0$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.89 (d, $J = 5.9$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 0.90 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.94 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.34-1.48 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 1.49-1.70 (m, 6 H, 3'''-H, 4'''-H, 3^{iv}-H_a, 5^{iv}-H), 1.71-1.80 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 1.89 (ddt, $J = 7.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2 H, 2''-H), 2.09-2.18 (m, 1 H, 3^v-H), 2.27 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 6.3$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.42 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 2.96 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H) 3.05 (t, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 1''-H), 3.22 (dt, $J = 13.3$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 3''-H_a), 3.29 (dt, $J = 13.3$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 3''-H_b), 3.91 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.3$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.04-4.11 (m, 3 H, 3'-H, 2^{iv}-H, 2^v-H), 4.11-4.17 (m, 1 H, 4'-H), 4.22 (dd, $J = 9.8$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 2'''-H), 4.41 (dd, $J = 5.6$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.72 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.85 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.63 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (126 MHz, D₂O): $\delta = 16.98$ (C_a-4^v), 18.52 (C_b-4^v), 20.67 (C_a-5'''), 22.06 (C_b-5'''), 22.12 (C-4^{iv}), 24.41 (C-4'''), 25.66 (C-2''), 26.28 (C-5^{iv}), 29.97 (C-3^v), 30.80 (C-3^{iv}), 32.77 (C-5'), 35.97 (C-3''), 39.24 (C-6^{iv}), 39.52 (C-3'''), 44.27 (C-1''), 52.60 (C-2'''), 54.08 (C-2^{iv}), 58.90 (C-2^v), 59.48 (C-6'), 72.63 (C-2'), 72.96 (C-3'), 79.94 (C-4'), 91.84 (C-1'), 102.22 (C-5), 116.37 (q, $^1J_{CF} = 291.8$ Hz, F₃C $\underline{\underline{C}}$ OO), 142.88 (C-6), 151.45 (C-2), 159.54 (NC(=O)N), 162.78 (q, $^2J_{CF} = 35.4$ Hz, F₃C $\underline{\underline{C}}$ OO), 166.24 (C-4), 171.89 (C-7'), 174.95 (C-1'''), 175.46 (C-1^{iv}), 176.79 (C-1^v).

¹⁹F-NMR (282 MHz, D₂O): $\delta = -75.58$ (s, CF₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = 12.8$ (c = 2.4, H₂O).

Schmelzpunkt: $T_m = 196$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2963, 1638, 1546, 1460, 1430, 1389, 1192, 1131, 834, 799, 720, 597$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{max} = 261$.

MS (ESI⁺): $m/z = 743.4$ [M+H]⁺.

C₃₂H₅₄N₈O₁₂ (742.83)

ber.: 372.2003 [M+2H]⁺,

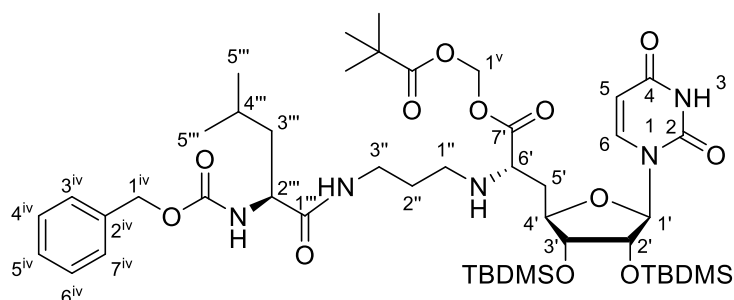
C₃₂H₅₄N₈O₁₂ · 2 CF₃COOH (970.87)

gef.: 372.2007 (ESI⁺-HRMS).

7.2.10 Synthese der Muraymycin-Prodrugs

7.2.10.1 Synthese des Bis-POM-Prodrugs 73

Synthese der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure 188



188

Eine Lösung des TFA-Salzes der (6'*S*)-konfigurierten POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **162** (42.0 mg, 55.4 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (4 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-leucinamid **88** (17.7 mg, 55.4 μ mol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (18.9 μ L, 111 μ mol) versetzt und 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Amberlyst® 15 (2.60 mg, 12.2 μ mol) und Natriumtriacetoxyborhydrid (23.3 mg, 111 μ mol) hinzugegeben und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (100 mL) versetzt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumcarbonatlösung (70 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (13 g, 2.0 x 8.0 cm, DCM:EtOAc 20:80 → 10:90) erhalten.

Ausbeute (188): 26.5 mg (27.9 μ mol, 50%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.25$ (DCM:MeOH 95:5).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 0.01 (s, 3 H, SiCH₃), 0.05 (s, 3 H, SiCH₃), 0.07 (s, 3 H, SiCH₃), 0.08 (s, 3 H, SiCH₃), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃), 0.94 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.94 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 1.20 (s, 9 H, C(=O)C(CH₃)₃), 1.45-1.54 (m, 1 H, 3'''-H_a), 1.54-1.70 (m, 4 H, 2''-H, 3'''-H_b, 4'''-H), 1.88 (ddd, $J = 13.6$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.08 (ddd, $J = 13.6$ Hz, $J = 13.5$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 1 H,

5'-H_b), 2.57 (ddd, $J = 12.2$ Hz, $J = 6.2$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 2.64-2.71 (m, 1 H, 1''-H_b), 3.31-3.40 (m, 2 H, 3''-H), 3.45 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.82 (dd, $J = 4.6$ Hz, $J = 3.4$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.04 (ddd, $J = 13.5$ Hz, $J = 3.4$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.27 (dd, $J = 12.8$ Hz, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 2'''-H), 4.66 (dd, $J = 5.1$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.13 (s, 2 H, 1^{iv}-H), 5.36 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.43 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 2'''-NH), 5.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.75-5.80 (m, 2 H, 1^v-H), 7.10-7.18 (m, 1 H, 1'''-NH), 7.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 7.26-7.37 (m, 5 H, 3^{iv}-H, 4^{iv}-H, 5^{iv}-H, 6^{iv}-H, 7^{iv}-H), 9.24 (s, 1 H, 3-NH).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): $\delta = -4.58$ (SiCH₃), -4.40 (SiCH₃), -4.40 (SiCH₃), -4.16 (SiCH₃), 18.17 (SiC(CH₃)₃), 18.28 (SiC(CH₃)₃), 22.32 (C_a-5'''), 23.24 (C_b-5'''), 24.99 (C-4'''), 25.99 (SiC(CH₃)₃), 26.05 (SiC(CH₃)₃), 27.10 (C(=O)C(CH₃)₃), 28.95 (C-2''), 36.61 (C-5'), 38.79 (C(=O)C(CH₃)₃), 38.99 (C-3''), 42.08 (C-3'''), 46.55 (C-1''), 53.83 (C-2'''), 59.19 (C-6'), 67.39 (C-1^{iv}), 72.71 (C-2'), 75.93 (C-3'), 80.10 (C-1^v), 83.05 (C-4'), 95.13 (C-1'), 102.68 (C-5), 128.85, 129.02, 129.47 (C-3^{iv}, C-4^{iv}, C-5^{iv}, C-6^{iv}, C-7^{iv}), 136.54 (C-2^{iv}), 142.92 (C-6), 150.21 (C-2), 156.67 (Cbz-C=O), 163.16 (C-4), 172.44 (C-1'''), 175.42 (C-7'), 177.21 (C(=O)C(CH₃)₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +15.4$ ($c = 1.3$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 60$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 1689, 1461, 1252, 1159, 1104, 1042, 835, 776$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 260$.

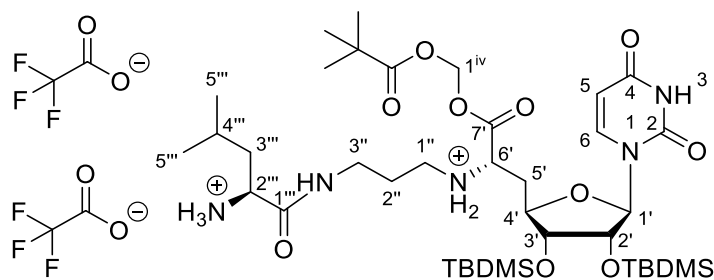
MS (ESI⁺): $m/z = 948.5$ [M+H]⁺.

C₄₆H₇₇N₅O₁₂Si₂ (948.32)

ber.: 948.5180 [M+H]⁺,

gef.: 948.5187 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des Bis-TFA-Salzes der L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure 191



191

Eine Lösung der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-POM-Ester-Nucleosyl-Aminosäure **188** (47.0 mg, 49.6 μ mol) in abs. *iso*-Propanol (2.5 mL) wurde mit

1,4-Cyclohexadien (46.2 μL , 496 μmol) und Trifluoressigsäure (7.6 μL , 99 μmol , auf 1% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Es wurde Palladium Black (20.0 mg, 188 μmol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (191): 51.7 mg (49.6 μmol , quant.) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.25$ (DCM:MeOH 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 0.05$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.14 (s, 3 H, SiCH_3), 0.16 (s, 3 H, SiCH_3), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.95 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.99 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, $5'''\text{-H}_a$), 1.01 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, $5'''\text{-H}_b$), 1.22 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.64-1.72 (m, 3 H, $3'''\text{-H}$, $4'''\text{-H}$), 1.88-2.00 (m, 2 H, $2''\text{-H}$), 2.32 (ddd, $J = 14.3$ Hz, $J = 8.0$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}_a$), 2.39 (ddd, $J = 14.3$ Hz, $J = 11.8$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}_b$), 3.15 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2 H, $1''\text{-H}$), 3.26-3.39 (m, 2 H, $3''\text{-H}$), 3.82-3.87 (m, 1 H, $2'''\text{-H}$), 4.06 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.19 (ddd, $J = 11.8$ Hz, $J = 3.5$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, $4'\text{-H}$), 4.32 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, $6'\text{-H}$), 4.66 (dd, $J = 5.4$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, $2'\text{-H}$), 5.63 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 5.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.85 (d, $J = 5.7$ Hz, 2 H, 1^{iv}-H_a), 5.90 (d, $J = 5.7$ Hz, 2 H, 1^{iv}-H_b), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): $\delta = -4.63$ (SiCH_3), -4.36 (SiCH_3), -4.31 (SiCH_3), -4.16 (SiCH_3), 18.86 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 22.08 ($\text{C}_a\text{-}5'''$), 23.00 ($\text{C}_b\text{-}5'''$), 25.52 ($\text{C-}4'''$), 26.36 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.44 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.27 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 27.46 ($\text{C-}2''$), 34.12 ($\text{C-}5'$), 37.55 ($\text{C-}3''$), 39.80 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 41.68 ($\text{C-}3'''$), 45.61 ($\text{C-}1''$), 53.11 ($\text{C-}2'''$), 58.41 ($\text{C-}6'$), 73.95 ($\text{C-}2'$), 76.52 ($\text{C-}3'$), 82.28 ($\text{C-}4'$), 82.47 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 94.73 ($\text{C-}1'$), 103.35 ($\text{C-}5$), 118.07 (q, $^1J_{\text{CF}} = 293.9$ Hz, F_3CCOO), 144.88 ($\text{C-}6$), 152.29 ($\text{C-}2$), 162.68 (q, $^2J_{\text{CF}} = 35.1$ Hz, F_3CCOO), 165.86 ($\text{C-}4$), 168.57 ($\text{C-}7'$), 171.37 ($\text{C-}1'''$), 178.02 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CD_3OD): $\delta = -72.99$ (s, CF_3).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -6.7$ ($c = 1.5$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 57$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2928, 2856, 1664, 1463, 1256, 1182, 1133, 835, 778, 721$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 259$.

MS (ESI^+): $m/z = 814.5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

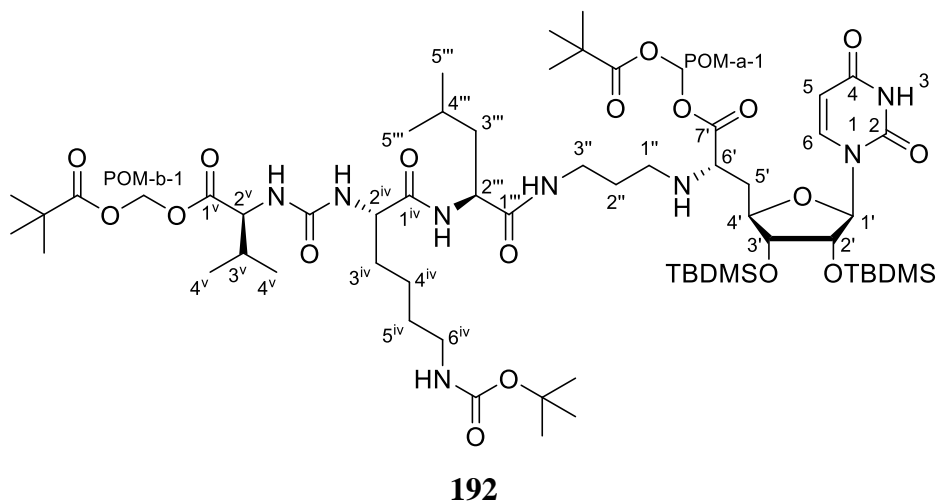
$\text{C}_{38}\text{H}_{71}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{Si}_2$ (814.18)

ber.: 814.4812 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

$\text{C}_{38}\text{H}_{71}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{Si}_2 \cdot 2 \text{CF}_3\text{COOH}$ (1042.23)

gef.: 814.4814 ($\text{ESI}^+\text{-HRMS}$).

Synthese des vollständig geschützten Bis-POM-Prodrugs 192



Variante 1:

Eine Lösung von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **83** (6.43 mg, 12.8 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (1.72 mg, 12.8 μmol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (6.64 mg, 12.8 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (4.30 μL, 25.5 μmol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des Bis-TFA-Salzes der L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **191** (13.3 mg, 12.8 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) hinzuge tropft und 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 12 cm, DCM:MeOH 97:3) erhalten.

Ausbeute (192): 7.2 mg (~ 5.5 μmol, ~ 40%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung von *O*-POM-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **83** (10.8 mg, 21.4 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (2.90 mg, 21.4 μmol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (11.1 mg, 21.4 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (10.3 μL, 64.0 μmol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des Bis-TFA-Salzes der L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **191** (20.3 mg, 19.5 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) hinzuge tropft, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Trifluoressigsäure (3.0 μL, 39 μmol, auf 1% in Tetrahydrofuran verdünnt) hinzugegeben, weitere 15 min gerührt, das Lösungsmittel im

Aufgrund der Komplexität der NMR-Spektren wurde Verbindung **192** lediglich per LC-MS Analyse identifiziert, weshalb auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse, nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden kann. **192** wurde direkt in der folgenden globalen sauren Entschützung zum Bis-POM-Prodrug **73** umgesetzt.

MS (ESI⁺): m/z = 1299.8 [M+H]⁺.

73

Ausbeute (73): 7.4 mg (6.17 μ mol, 27%, über 2 Stufen von **191**) eines farblosen Feststoffes (~ 40% basierend auf zurückgewonnener *N*-Boc-geschützter Vorläuferverbindung und angenommener hinreichender Reinheit von **192**).

HPLC (analytisch): $t_R = 10.6$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μ L (c \sim 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 12.8$ min (Methode DWP289, Injektionskonzentration: 18 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 0.83$ (d, $J = 5.7$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.87 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.88 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.16 (s, 9 H, POM-b-C(=O)C(CH₃)₃), 1.16 (s, 9 H, POM-a-C(=O)C(CH₃)₃), 1.34-1.47 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 1.49-1.70 (m, 6 H, 3'''-H, 4'''-H, 3^{iv}-H_a, 5^{iv}-H), 1.71-1.80 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 1.89 (ddt, $J = 7.2$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2 H, 2''-H), 2.11 (dq, $J = 6.8$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.41 (ddd, $J = 14.9$ Hz, $J = 9.9$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.49 (ddd, $J = 14.9$ Hz, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 2.96 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 3.06-3.12 (m, 2 H, 1''-H), 3.21 (dt, $J = 14.4$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 3''-H_a), 3.25-3.32 (m, 2 H, 3''-H_b), 4.00-4.09 (m, 3 H, 3'-H, 4'-H, 2^{iv}-H), 4.11 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2^v-H), 4.22 (dd, $J = 9.7$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 2'''-H), 4.34 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.66 (dd, $J = 4.3$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.69 (d, $J = 4.0$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.72 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, POM-b-1-H_a), 5.80 (d, $J = 5.9$ Hz, 1 H, POM-a-1-H_a), 5.85 (d, $J = 5.9$ Hz, 1 H, POM-a-1-H_b), 5.85 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, POM-b-1-H_b), 5.86 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (126 MHz, D₂O): $\delta = 17.08$ (C_a-4^v), 18.28 (C_b-4^v), 20.58 (C_a-5'''), 22.11 (C_b-5'''), 22.13 (C-4^{iv}), 24.37 (C-4'''), 25.52 (C-2''), 25.94 (C(=O)C(CH₃)₃-POM-a), 26.02 (C(=O)C(CH₃)₃-POM-b), 26.31 (C-5^{iv}), 29.90 (C-3^v), 30.71 (C-3^{iv}), 32.04 (C-5'), 35.91 (C-3''), 38.53, 38.56 (C(=O)C(CH₃)₃-POM-a, C(=O)C(CH₃)₃-POM-b), 39.18 (C-6^{iv}), 39.40 (C-3'''), 44.25 (C-1''), 52.50 (C-2'''), 54.40 (C-2^{iv}), 57.16 (C-6'), 58.77 (C-2^v), 72.46 (C-2'), 72.83 (C-3'), 78.68 (C-4'), 80.07 (C-POM-b-1), 81.48 (C-POM-a-1), 92.10 (C-1'), 102.29 (C-5), 116.30 (q, $^1J_{CF} = 291.5$ Hz, F₃C₂COO), 142.91 (C-6), 151.26 (C-2), 159.34 (NC(=O)N), 162.95 (q, $^2J_{CF} = 35.8$ Hz, F₃C₂COO), 166.10 (C-4), 167.56 (C-7'), 173.21 (C-1^v), 174.90 (C-1'''), 175.47 (C-1^{iv}), 179.45 (C(=O)C(CH₃)₃-POM-a), 179.81 (C(=O)C(CH₃)₃-POM-b).

¹⁹F-NMR (282 MHz, D₂O): $\delta = -75.59$ (s, CF₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +26.7$ (c = 0.8, H₂O).

Schmelzpunkt: $T_m = 142$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2965, 1755, 1667, 1552, 1462, 1199, 1180, 1128, 1103, 982, 834, 799, 721$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{max} = 261$.

MS (ESI⁺): m/z = 971.5 [M+H]⁺.

C₄₄H₇₄N₈O₁₆ (971.12)

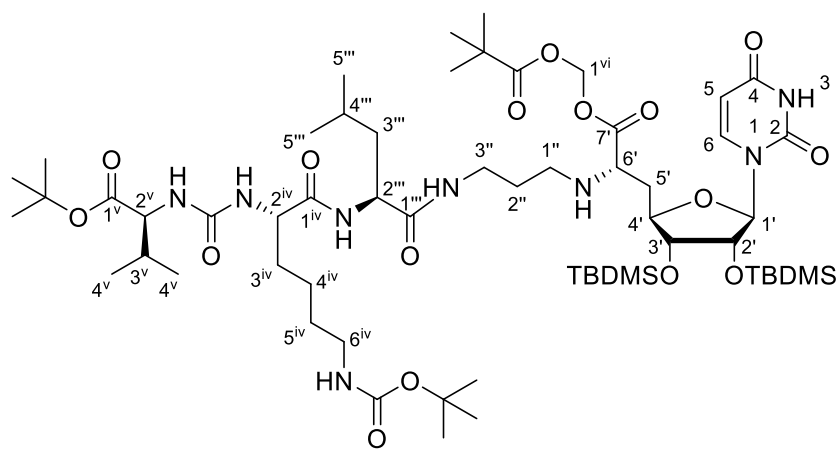
ber.: 486.2681 [M+2H]⁺,

C₄₄H₇₄N₈O₁₆ · 2 CF₃COOH (1199.16)

gef.: 486.2703 (ESI⁺-HRMS).

7.2.10.2 Synthese des Nucleobasen-verlinkten Mono-POM-Prodrugs 74

Synthese des vollständig geschützten *O*-*tert*-Butyl-Nucleosyl-Aminosäure-verlinkten Mono-POM-Prodrugs 193



193

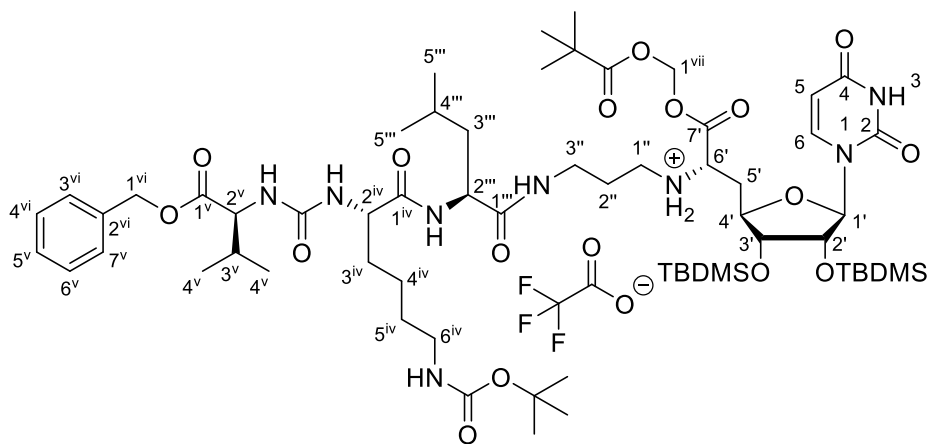
Eine Lösung von *O*-*tert*-Butyl-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **85** (9.80 mg, 21.8 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (2.90 mg, 21.8 μmol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (11.3 mg, 21.8 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (7.50 μL, 43.6 μmol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des Bis-TFA-Salzes der L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **191** (22.7 mg, 21.8 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) hinzugegeben, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.0 x 13 cm, DCM:MeOH 97:3) erhalten. Aufgrund der Komplexität der NMR-Spektren wurde Verbindung **193** lediglich per LC-MS Analyse identifiziert, weshalb auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm (λ = 254 nm) der LC-MS-Analyse, nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden kann. **193** wurde direkt in der folgenden globalen sauren Entschützung umgesetzt.

Ausbeute (193): 21.1 mg (~ 17 μ mol, ~ 80%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.24$ (DCM:MeOH 95:5).

MS (ESI⁺): $m/z = 1241.7$ [M+H]⁺.

Synthese des TFA-Salzes des vollständig geschützten *O*-Benzyl-Nucleosyl-Aminosäure-verlinkten Mono-POM-Prodrugs **195**



195

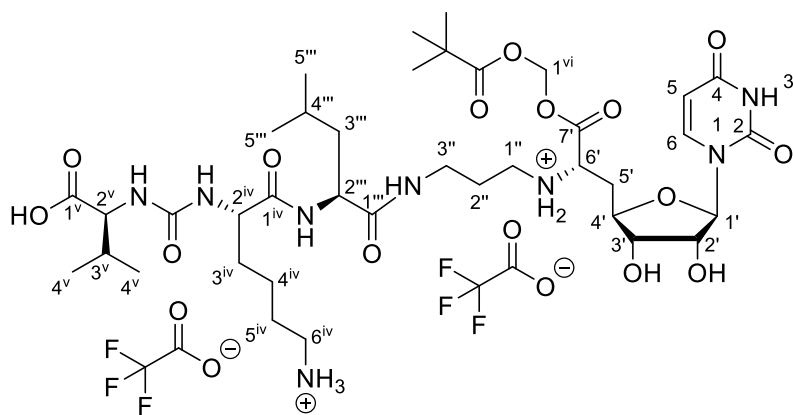
Eine Lösung von *O*-Bn-L-Valin-*N*-(C=O)-*N*-(N^ε-Boc)-L-lysin **86** (9.10 mg, 19.0 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (2.60 mg, 19.0 μ mol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (9.90 mg, 19.0 μ mol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (9.10 μ L, 53.5 μ mol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des Bis-TFA-Salzes der L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **191** (18.0 mg, 17.3 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) hinzuge tropft, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Trifluoressigsäure (2.7 μ L, 35 μ mol, auf 1% in Tetrahydrofuran verdünnt) hinzugegeben, weitere 15 min gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Zielverbindung als TFA-Salz durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (12 g, 2.0 x 10 cm, DCM:MeOH 97:3) erhalten. Aufgrund der Komplexität der NMR-Spektren wurde Verbindung **195** lediglich per LC-MS Analyse identifiziert, weshalb auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse, nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden kann. **195** wurde direkt in der folgenden globalen sauren Entschützung umgesetzt.

Ausbeute (195): 19.1 mg (~ 14 μ mol, ~ 80%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.21$ (DCM:MeOH 95:5).

MS (ESI⁺): $m/z = 1275.7$ [M+H]⁺.

Synthese des Nucleosyl-Aminosäure-verlinkten Mono-POM-Prodrugs **74**



74

Eine Lösung des TFA-Salzes des vollständig geschützten *O*-Benzyl-Nucleosyl-Aminosäure-verlinkten Mono-POM-Prodrugs **195** (15.0 mg, ~ 11 µmol) in abs. *iso*-Propanol (2 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (50.0 µL, 624 µmol) und Trifluoressigsäure (0.9 µL, 12 µmol, auf 1% in *iso*-Propanol verdünnt) versetzt. Es wurde Palladium Black (10.0 mg, 94.0 µmol) hinzugegeben und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert, dieser mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Die nachfolgende Reaktion der Synthesesequenz wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung des resultierenden farblosen Feststoffes wurde in Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst, mit Trifluoressigsäure (4.5 mL, 20% in Wasser) versetzt und 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (20 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten.

Ausbeute (74): 8.2 mg (7.56 µmol, 56%, über 3 Stufen von **191**) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (analytisch): $t_R = 8.8$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 µL ($c \sim 1$ mg/mL, in H₂O)).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 8.3$ min (Methode DWP289, Injektionskonzentration: 18 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ = 0.85 (d, J = 5.5 Hz, 3 H, $5'''$ - H_a), 0.90 (d, J = 5.4 Hz, 3 H, $5'''$ - H_b), 0.91 (d, J = 6.6 Hz, 3 H, 4^v - H_a), 0.95 (d, J = 6.7 Hz, 3 H, 4^v - H_b), 1.18 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.36-1.49 (m, 2 H, 4^{iv} -H), 1.51-1.71 (m, 6 H, $3'''$ -H, $4'''$ -H, 3^{iv} - H_a , 5^{iv} -H), 1.73-1.82 (m, 1 H, 3^{iv} - H_b), 1.91 (ddt, J = 7.1 Hz, J = 6.7 Hz, J = 6.6 Hz, 2 H, $2''$ -H), 2.15 (dq, J = 7.2 Hz, J = 6.7 Hz, J = 6.6 Hz, 1 H, 3^v -H), 2.42 (ddd, J = 14.3 Hz, J = 9.5 Hz, J = 4.6 Hz, 1 H, $5'$ - H_a), 2.50 (ddd, J = 14.3 Hz, J = 7.3 Hz, J = 1.1 Hz, 1 H, $5'$ - H_b), 2.97 (dd, J = 7.6 Hz, J = 7.6 Hz, 2 H, 6^{iv} -H), 3.07-3.15 (m, 2 H, $1''$ -H), 3.22 (dt, J = 13.3 Hz, J = 6.7 Hz, 1 H, $3''$ - H_a), 3.32 (dt, J = 13.3 Hz, J = 6.6 Hz, 1 H, $3''$ - H_b), 4.05-4.11 (m, 4 H, $3'$ -H, $4'$ -H, 2^{iv} -H, 2^v -H), 4.24 (dd, J = 9.7 Hz, J = 4.3 Hz, 1 H, $2''$ -H), 4.36 (dd, J = 9.5 Hz, J = 7.3 Hz, 1 H, $6'$ -H), 4.43 (dd, J = 4.0 Hz, J = 3.8 Hz, 1 H, $2'$ -H), 5.70 (d, J = 3.8 Hz, 1 H, $1'$ -H), 5.82 (d, J = 5.8 Hz, 1 H, 1^{vi} - H_a), 5.86 (d, J = 5.8 Hz, 1 H, 1^{vi} - H_b), 5.87 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 7.61 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, D_2O): δ = 16.87 (C_a - 4^v), 18.43 (C_b - 4^v), 20.52 (C_a - $5'''$), 22.02 (C_b - $5'''$), 22.06 (C - 4^{iv}), 24.32 (C - $4'''$), 25.47 (C - $2''$), 25.88 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 26.20 (C - 5^{iv}), 29.88 (C - 3^v), 30.62 (C - 3^{iv}), 31.93 (C - $5'$), 35.85 (C - $3''$), 38.47 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 39.15 (C - 6^{iv}), 39.37 (C - $3'''$), 44.17 (C - $1''$), 52.47 (C - $2'''$), 54.23 (C - 2^{iv}), 57.12 (C - $6'$), 58.73 (C - 2^v), 72.41 (C - $2'$), 72.77 (C - $3'$), 78.64 (C - $4'$), 81.43 (C - 1^{vi}), 92.10 (C - $1'$), 102.24 (C - 5), 116.22 (q, $^1J_{\text{CF}}$ = 291.4 Hz, F_3CCOO), 142.86 (C - 6), 151.22 (C - 2), 159.45 ($\text{NC}(=\text{O})\text{N}$), 162.84 (q, $^2J_{\text{CF}}$ = 35.7 Hz, F_3CCOO), 166.06 (C - 4), 167.50 (C - $7'$), 174.88 (C - $1'''$), 175.48 (C - 1^{iv}), 176.53 (C - 1^v), 179.42 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, D_2O): δ = -75.59 (s, CF_3).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -79.2 (c = 0.6, H_2O).

Schmelzpunkt: T_m = 148 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2963, 1656, 1551, 1464, 1181, 1128, 799, 769, 720, 551.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 261.

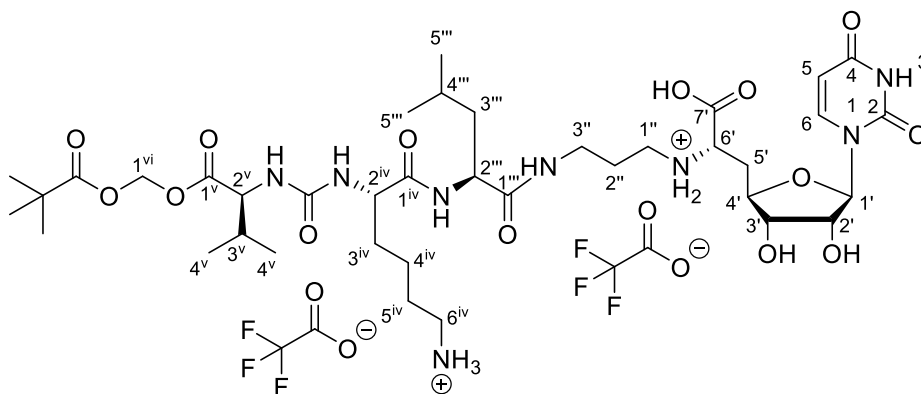
MS (ESI^+): m/z = 857.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{38}\text{H}_{64}\text{N}_8\text{O}_{14}$ (856.97)

ber.: 857.4619 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

$\text{C}_{38}\text{H}_{64}\text{N}_8\text{O}_{14} \cdot 2 \text{CF}_3\text{COOH}$ (1085.02)

gef.: 857.4615 (ESI^+ -HRMS).

7.2.10.3 Synthese des Peptidketten-verlinkten Mono-POM-Prodrugs **75****75**

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung des Bis-POM-Prodrugs **73** (11.5 mg, 9.39 μmol) in Wasser wurde 7 d bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten.

Ausbeute (75): 5.1 mg (4.70 μmol , 50%) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (analytisch): $t_R = 9.4$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μL ($c \sim 1$ mg/mL, in H_2O)).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 9.9$ min (Methode DWP289, Injektionskonzentration: 18 mg in $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ 95:5 (0.8 mL)).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): $\delta = 0.76$ (d, $J = 5.9$ Hz, 3 H, $5'''\text{-H}_a$), 0.81 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.81 (d, $J = 5.8$ Hz, 3 H, $5'''\text{-H}_b$), 0.84 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.09 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.27-1.40 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 1.42-1.63 (m, 6 H, $3'''\text{-H}$, $4'''\text{-H}$, 3^{iv}-H_a , 5^{iv}-H), 1.64-1.73 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 1.82 (ddt, $J = 7.9$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 2 H, $2''\text{-H}$), 2.04 (dq, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.25 (ddd, $J = 15.5$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}_a$), 2.39 (ddd, $J = 15.5$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}_b$), 2.89 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 3.01 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H, $1''\text{-H}$), 3.15 (dt, $J = 13.2$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, $3''\text{-H}_a$), 3.21 (dt, $J = 13.2$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, $3''\text{-H}_b$), 3.96-4.02 (m, 3 H, $3'\text{-H}$, $6'\text{-H}$, 2^{iv}-H), 4.04 (d, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 2^v-H), 4.08 (ddd, $J = 10.6$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1 H, $4'\text{-H}$), 4.12-4.18 (m, 1 H, $2'''\text{-H}$), 4.34 (dd, $J = 5.6$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1 H, $2'\text{-H}$), 5.65 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 5.66 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 1^{vi}-H_a), 5.77 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 1^{vi}-H_b), 5.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 5-H), 7.54 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, D_2O): $\delta = 17.04$ ($\text{C}_a\text{-}4^v$), 18.20 ($\text{C}_b\text{-}4^v$), 20.58 ($\text{C}_a\text{-}5'''$), 22.02 ($\text{C}_b\text{-}5'''$), 22.02 ($\text{C-}4^{\text{iv}}$), 24.32 ($\text{C-}4'''$), 25.55 ($\text{C-}2''$), 25.96 ($\text{C}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 26.24 ($\text{C-}5^{\text{iv}}$), 29.81 ($\text{C-}3^v$),

30.72 (C-3^{iv}), 32.33 (C-5'), 35.87 (C-3''), 38.51 (C(=O)C(CH₃)₃), 39.14 (C-6^{iv}), 39.42 (C-3'''), 44.13 (C-1''), 52.49 (C-2'''), 54.11 (C-2^{iv}), 58.34 (C-6'), 58.74 (C-2^v), 72.51 (C-2'), 72.88 (C-3'), 79.46 (C-4'), 80.04 (C-1^{vi}), 91.74 (C-1'), 102.15 (C-5), 116.27 (q, ¹J_{CF} = 291.5 Hz, F₃C₂COO), 142.74 (C-6), 151.33 (C-2), 159.30 (NC(=O)N), 162.12 (q, ²J_{CF} = 35.6 Hz, F₃C₂COO), 166.12 (C-4), 171.06 (C-7'), 173.22 (C-1^v), 174.86 (C-1'''), 175.30 (C-1^{iv}), 179.79 (C(=O)C(CH₃)₃).

¹⁹F-NMR (282 MHz, D₂O): δ = -75.59 (s, CF₃).

Drehwert: [α]₂₀^D = 85.7 (c = 0.47, H₂O).

Schmelzpunkt: T_m = 160 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2963, 1640, 1550, 1463, 1198, 1180, 1129, 1102, 982, 799, 720, 550.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 261.

MS (ESI⁺): m/z = 857.5 [M+H]⁺.

C₃₈H₆₄N₈O₁₄ (856.97)

ber.: 857.4619 [M+H]⁺,

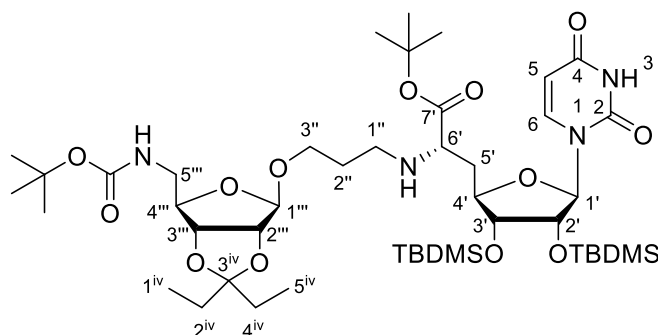
C₃₈H₆₄N₈O₁₄ · 2 CF₃COOH (1085.02)

gef.: 857.4615 (ESI⁺-HRMS).

7.2.11 Synthese der propylverlinkten aminoribosylierten Muraymycin-Analoga

7.2.11.1 Synthese des 6'-N-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **89** und des 6'-N-verlinkten deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **91**

Synthese der 6'-N-Glycosyl-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **197**



197

Eine Lösung der (6'S)-konfigurierten 5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **43** (83.0 mg, 142 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (6 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit dem Aminoribose-abgeleiteten Aldehyd **95** (63.0 mg, 169 μmol) versetzt und 24 h bei

Raumtemperatur gerührt. Es wurden Amberlyst® 15 (6.60 mg, 31.2 µmol) und Natriumtriacetoxyborhydrid (60.0 mg, 284 µmol) zugegeben und weitere 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (100 mL) versetzt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumcarbonatlösung (100 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (16 g, 2.5 x 10 cm, DCM:MeOH 97.5:2.5) erhalten.

Ausbeute (197): 101 mg (107 µmol, 76%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.30$ (DCM:MeOH 94:6).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 0.09$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.12 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.87 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1^{iv}-H), 0.89 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5^{iv}-H), 0.91 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.93 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.44 (s, 9 H, $\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.49 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.58 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2^{iv}-H), 1.67 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4^{iv}-H), 1.70-1.82 (m, 2 H, $2''\text{-H}$), 1.86-1.94 (m, 1 H, $5'\text{-H}_a$), 2.00-2.08 (m, 1 H, $5'\text{-H}_b$), 2.58-2.65 (m, 1 H, $1''\text{-H}_a$), 2.65-2.72 (m, 1 H, $1''\text{-H}_b$), 3.17 (d, $J = 7.2$ Hz, 2 H, $5'''\text{-H}$), 3.34 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, $6'\text{-H}$), 3.41-3.47 (m, 1 H, $3''\text{-H}_a$), 3.74-3.80 (m, 1 H, $3''\text{-H}_b$), 3.91 (dd, $J = 4.6$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.04-4.10 (m, 1 H, $4'\text{-H}$), 4.16 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, $4'''\text{-H}$), 4.33 (dd, $J = 4.4$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, $2'\text{-H}$), 4.60 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, $3'''\text{-H}$), 4.67 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, $2'''\text{-H}$), 5.01 (s, 1 H, $1'''\text{-H}$), 5.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.78 (d, $J = 4.1$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 7.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): $\delta = -4.40$ (SiCH_3), -4.39 (SiCH_3), -4.39 (SiCH_3), -3.98 (SiCH_3), 7.75 ($\text{C-}5^{\text{iv}}$), 8.72 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 18.88 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.40 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.47 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.47 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 28.79 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.92 ($\text{C-}4^{\text{iv}}$), 30.31 ($\text{C-}2^{\text{iv}}$), 30.54 ($\text{C-}2''$), 38.00 ($\text{C-}5'$), 44.63 ($\text{C-}5'''$), 46.10 ($\text{C-}1''$), 60.70 ($\text{C-}6'$), 67.13 ($\text{C-}3''$), 75.92 ($\text{C-}2'$), 76.60 ($\text{C-}3'$), 80.28 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 82.57 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 82.92 ($\text{C-}4'$), 83.83 ($\text{C-}3'''$), 87.09 ($\text{C-}2'''$), 87.20 ($\text{C-}4'''$), 91.87 ($\text{C-}1'$), 103.04 ($\text{C-}5$), 110.00 ($\text{C-}1'''$), 117.68 ($\text{C-}3^{\text{iv}}$), 142.68 ($\text{C-}6$), 152.15 ($\text{C-}2$), 158.31 (Boc-C=O), 166.01 ($\text{C-}4$), 174.84 ($\text{C-}7'$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -15.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 62$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2931, 2858, 1692, 1561, 1366, 1251, 1157, 1090, 836, 776$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 261$.

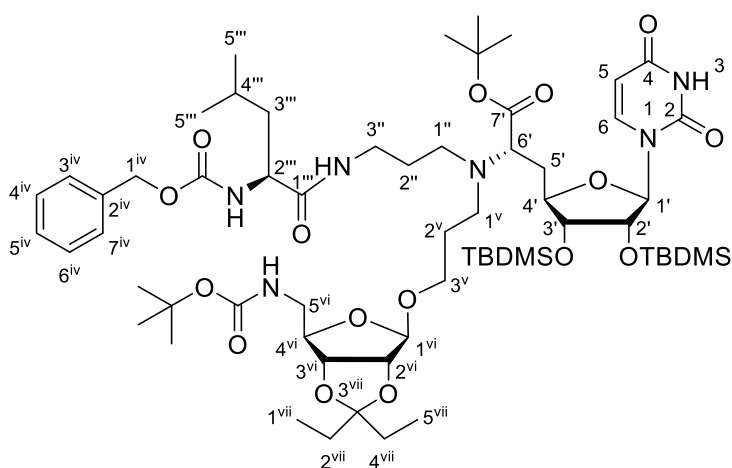
MS (ESI⁺): $m/z = 943.5$ [M+H]⁺.

C₄₅H₈₂N₄O₁₃Si₂ (943.34)

ber.: 943.5490 [M+H]⁺,

gef.: 943.5486 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des vollständig geschützten verkürzten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 196



196

Eine Lösung der 6'-*N*-Glycosyl-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **197** (88.0 mg, 93.3 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (6 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-Leucinamid **88** (33.0 mg, 103 μmol) versetzt und 39 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Amberlyst[®] 15 (4.30 mg, 20.5 μmol) und Natriumtriacetoxyborhydrid (39.3 mg, 187 μmol) hinzugegeben und weitere 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut mit 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-Leucinamid **88** (33.0 mg, 103 μmol) versetzt und nach weiteren 4 h erneut Natriumtriacetoxyborhydrid (39.3 mg, 187 μmol) hinzugegeben. Es wurde weitere 18 h gerührt, erneut Natriumtriacetoxyborhydrid (39.3 mg, 187 μmol) hinzugegeben und weitere 2 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (100 mL) versetzt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumcarbonatlösung (70 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch zweifache säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (18 g, 2.0 x 13 cm, DCM:MeOH 98.2:1.8 → 98:2; 5 g, 1.0 x 13 cm, DCM:MeOH 98:2) erhalten.

Ausbeute (196): 81.6 mg (65.4 μ mol, 70%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.26$ (DCM:MeOH 96:4).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 0.06$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.15 (s, 3 H, SiCH_3), 0.86 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1^{vii}-H), 0.88-0.93 (m, 3 H, 5^{vii}-H), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.94 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.92-0.97 (m, 6 H, 5^{iii}-H), 1.44 (s, 9 H, $\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.48 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.51-1.57 (m, 2 H, 3^{iii}-H), 1.57 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2^{vii}-H), 1.67 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4^{vii}-H), 1.62-1.75 (m, 5 H, 2^{v}-H , 4^{iii}-H , 2^{v}-H), 1.77-1.85 (m, 1 H, 5^{a}-H_a), 2.17-2.27 (m, 1 H, 5^{b}-H_b), 2.52-2.62 (m, 2 H, 1^{a}-H_a , 1^{v}-H_a), 2.64-2.67 (m, 2 H, 1^{b}-H_b , 1^{v}-H_b), 3.13-3.19 (m, 2 H, 5^{vi}-H), 3.22 (dd, $J = 6.7$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 2 H, 3^{v}-H), 3.40-3.47 (m, 1 H, 3^{v}-H_a), 3.50 (dd, $J = 10.6$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1 H, 6^{v}-H), 3.66-3.73 (m, 1 H, 3^{v}-H_b), 3.94 (dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, 3^{v}-H), 3.96-4.02 (m, 1 H, 4^{v}-H), 4.12 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 1 H, 2^{iii}-H), 4.15 (dd, $J = 7.3$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 4^{vi}-H), 4.40 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 2^{v}-H), 4.59 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 3^{vi}-H), 4.67 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2^{vi}-H), 5.01 (s, 1 H, 1^{vi}-H), 5.07 (d, $J = 12.5$ Hz, 1 H, 1^{iv}-H_a), 5.11 (d, $J = 12.5$ Hz, 1 H, 1^{iv}-H_b), 5.76 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.78 (d, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 1^{v}-H), 7.24-7.38 (m, 5 H, 3^{iv}-H , 4^{iv}-H , 5^{iv}-H , 6^{iv}-H , 7^{iv}-H), 7.61 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): $\delta = -4.43$ (SiCH_3), -4.31 (SiCH_3), -4.23 (SiCH_3), -3.98 (SiCH_3), 7.80 ($\text{C-}5^{\text{vii}}$), 8.74 ($\text{C-}1^{\text{vii}}$), 18.86 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 19.00 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 22.06 ($\text{C}_a\text{-}5^{\text{iii}}$), 23.48 ($\text{C}_b\text{-}5^{\text{iii}}$), 25.95 ($\text{C-}4^{\text{iii}}$), 26.39 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.49 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.68 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 28.81 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.26 ($\text{C-}2^{\text{v}}$), 29.93 ($\text{C-}4^{\text{vii}}$), 30.13 ($\text{C-}2^{\text{v}}$), 30.33 ($\text{C-}2^{\text{vii}}$), 35.38 ($\text{C-}5^{\text{v}}$), 38.59 ($\text{C-}3^{\text{v}}$), 42.36 ($\text{C-}3^{\text{iii}}$), 44.67 ($\text{C-}5^{\text{vi}}$), 49.28 ($\text{C-}1^{\text{v}}$), 49.97 ($\text{C-}1^{\text{v}}$), 55.12 ($\text{C-}2^{\text{iii}}$), 61.91 ($\text{C-}6^{\text{v}}$), 66.82 ($\text{C-}3^{\text{v}}$), 67.73 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 75.63 ($\text{C-}2^{\text{v}}$), 76.96 ($\text{C-}3^{\text{v}}$), 80.27 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 82.60 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 83.35 ($\text{C-}4^{\text{v}}$), 83.88 ($\text{C-}2^{\text{vi}}$), 87.03 ($\text{C-}3^{\text{vi}}$), 87.10 ($\text{C-}4^{\text{vi}}$), 91.76 ($\text{C-}1^{\text{v}}$), 103.23 ($\text{C-}5$), 110.00 ($\text{C-}1^{\text{vi}}$), 117.67 ($\text{C-}3^{\text{vii}}$), 128.88, 129.04, 129.49 ($\text{C-}3^{\text{iv}}$, $\text{C-}4^{\text{iv}}$, $\text{C-}5^{\text{iv}}$, $\text{C-}6^{\text{iv}}$, $\text{C-}7^{\text{iv}}$), 138.18 ($\text{C-}2^{\text{iv}}$), 142.84 ($\text{C-}6$), 152.15 ($\text{C-}2$), 158.28, 158.34 (Cbz-C=O , Boc-C=O), 165.94 ($\text{C-}4$), 172.89, 175.19 ($\text{C-}7^{\text{v}}$, $\text{C-}1^{\text{iii}}$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -5.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 75$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2857, 1692, 1366, 1258, 1153, 1087, 1043, 836, 777$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 260$.

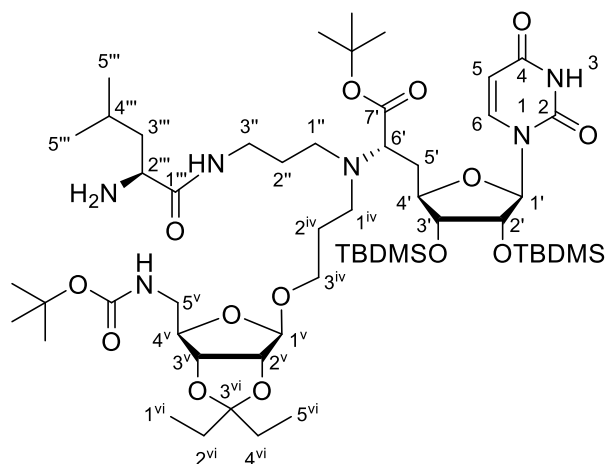
MS (ESI^+): $m/z = 1247.7$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

$\text{C}_{62}\text{H}_{106}\text{N}_6\text{O}_{16}\text{Si}_2$ (1247.73)

ber.: 1247.7277 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$,

gef.: 1247.7252 ($\text{ESI}^+\text{-HRMS}$).

Synthese des *N*-Cbz-entschützten verkürzten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **93**

**93**

Variante 1:

Eine Lösung des vollständig geschützten verkürzten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **196** (20.0 mg, 16.0 μmol) in abs. Methanol (3 mL) wurde mit Palladium (10.0 mg, 9.40 μmol , 10% auf Aktivkohle) und 1,4-Cyclohexadien (15.0 μL , 160 μmol) versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (93): 16.0 mg (14.0 μmol , 88%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung des vollständig geschützten verkürzten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **196** (28.2 mg, 22.6 μmol) in abs. *iso*-Propanol (3 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (21.0 μL , 226 μmol) versetzt. Es wurde Palladium Black (10.0 mg, 94.0 μmol) hinzugegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (93): 25.2 mg (22.6 μmol , quant.) eines farblosen Wachses.

DC: $R_f = 0.10$ (DCM:MeOH 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.07 (s, 3 H, SiCH_3), 0.10 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.15 (s, 3 H, SiCH_3), 0.87 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1^{vi}-H), 0.89 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5^{vi}-H), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.95 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.95-1.02 (m, 6 H, 5^{iii}-H), 1.45 (s, 9 H, $\text{NC(=O)OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.49 (s, 9 H, $\text{C(=O)OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.58 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2^{vi}-H), 1.67 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4^{vi}-H), 1.63-1.77 (m, 7 H, 2^{ii}-H , 3^{iii}-H , 4^{iii}-H , 2^{iv}-H), 1.77-1.85 (m, 1 H, 5^{i}-H_a), 2.17-2.26 (m, 1 H, 5^{i}-H_b), 2.56-2.65 (m, 2 H, 1^{ii}-H_a , 1^{iv}-H_a), 2.66-2.78 (m, 2 H, 1^{ii}-H_b , 1^{iv}-H_b), 3.13-3.26 (m, 3 H, 3^{ii}-H_a , 5^{v}-H), 3.33-3.41 (m, 1 H, 3^{ii}-H_b), 3.42-3.49 (m, 1 H, 3^{iv}-H_a), 3.51 (dd, J = 10.5 Hz, J = 3.5 Hz, 1 H, 6^{i}-H), 3.68-3.75 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 3.76-3.81 (m, 1 H, 2^{iii}-H), 3.95 (dd, J = 4.4 Hz, J = 4.1 Hz, 1 H, 3^{i}-H), 3.96-4.01 (m, 1 H, 4^{i}-H), 4.13-4.19 (m, 1 H, 4^{v}-H), 4.43 (dd, J = 4.8 Hz, J = 4.4 Hz, 1 H, 2^{i}-H), 4.58-4.62 (m, 1 H, 3^{v}-H), 4.68 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, 2^{v}-H), 4.99-5.02 (m, 1 H, 1^{v}-H), 5.76 (d, J = 4.8 Hz, 1 H, 1^{i}-H), 5.77 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.43 (SiCH_3), -4.34 (SiCH_3), -4.27 (SiCH_3), -3.98 (SiCH_3), 7.79 ($\text{C-}5^{\text{vi}}$), 8.73 ($\text{C-}1^{\text{vi}}$), 18.86 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 19.00 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 22.29 ($\text{C}_a\text{-}5^{\text{iii}}$), 23.08 ($\text{C}_b\text{-}5^{\text{iii}}$), 25.56 ($\text{C-}4^{\text{iii}}$), 26.38 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.48 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.67 ($\text{C(=O)OC}(\text{CH}_3)_3$), 28.81 ($\text{NC(=O)OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.42 ($\text{C-}2^{\text{ii}}$), 29.93 ($\text{C-}4^{\text{vi}}$), 30.06 ($\text{C-}2^{\text{iv}}$), 30.32 ($\text{C-}2^{\text{vi}}$), 35.10 ($\text{C-}5^{\text{i}}$), 39.07 ($\text{C-}3^{\text{ii}}$), 41.99 ($\text{C-}3^{\text{iii}}$), 44.63 ($\text{C-}5^{\text{v}}$), 50.05 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 50.27 ($\text{C-}1^{\text{ii}}$), 53.25 ($\text{C-}2^{\text{iii}}$), 62.04 ($\text{C-}6^{\text{i}}$), 66.83 ($\text{C-}3^{\text{iv}}$), 75.61 ($\text{C-}2^{\text{i}}$), 76.99 ($\text{C-}3^{\text{i}}$), 80.30 ($\text{NC(=O)OC}(\text{CH}_3)_3$), 82.69 ($\text{C(=O)OC}(\text{CH}_3)_3$), 83.29 ($\text{C-}4^{\text{i}}$), 83.89 ($\text{C-}2^{\text{v}}$), 87.04 ($\text{C-}3^{\text{v}}$), 87.12 ($\text{C-}4^{\text{v}}$), 92.13 ($\text{C-}1^{\text{i}}$), 103.15 ($\text{C-}5$), 109.91 ($\text{C-}1^{\text{v}}$), 117.71 ($\text{C-}3^{\text{vi}}$), 142.95 ($\text{C-}6$), 152.09 ($\text{C-}2$), 158.32 (Boc-C=O), 166.04 ($\text{C-}4$), 170.68, 172.93 ($\text{C-}7^{\text{i}}$, $\text{C-}1^{\text{iii}}$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -53.8$ ($c = 1.3$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2961, 2929, 1695, 1366, 1258, 1149, 1085, 1014, 867, 797$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 260$.

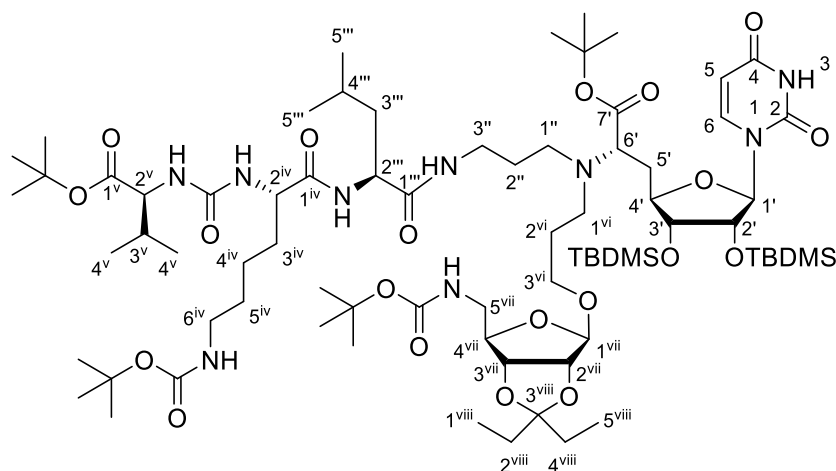
MS (ESI^+): $m/z = 1113.7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{54}\text{H}_{100}\text{N}_6\text{O}_{14}\text{Si}_2$ (1113.59)

ber.: 1113.6897 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 1113.6909 ($\text{ESI}^+\text{-HRMS}$).

Synthese des vollständig geschützten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **198**

**198**

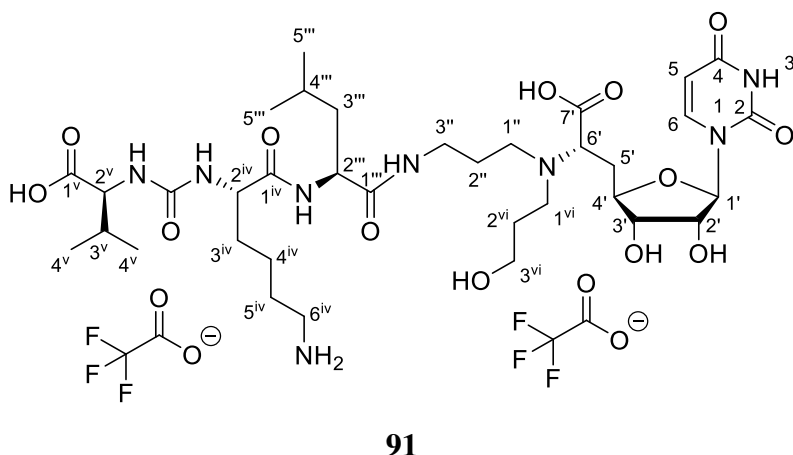
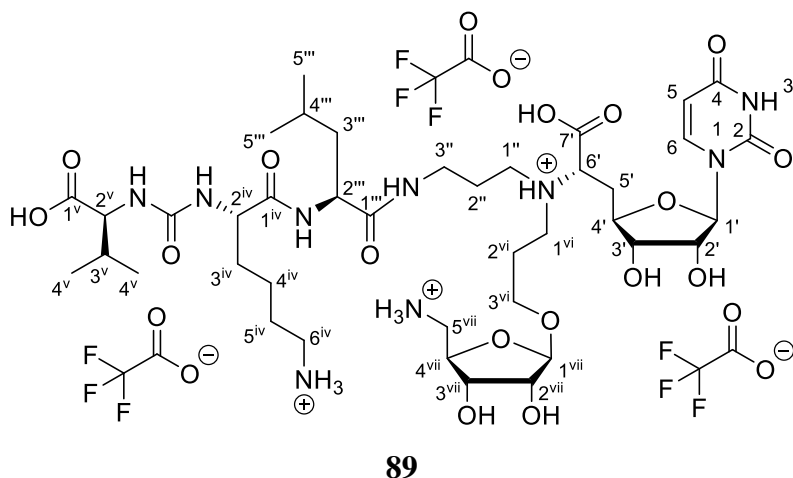
Eine Lösung von *O*-*tert*-Butyl-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **85** (6.10 mg, 13.7 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (1.90 mg, 13.7 μmol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (7.1 mg, 13.7 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (4.70 μL, 27.3 μmol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des *N*-Cbz-entschützten verkürzten 6'-*N*-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **93** (15.2 mg, 13.7 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) hinzuge tropft, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.0 x 13 cm, DCM:MeOH 97:3) erhalten. Aufgrund der Komplexität der NMR-Spektren wurde Verbindung **198** lediglich per LC-MS Analyse identifiziert, weshalb auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse, nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden kann. **198** wurde direkt in der folgenden globalen sauren Entschützung umgesetzt.

Ausbeute (198): 20.4 mg (~ 13 μmol, ~ 95%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.22$ (DCM:MeOH 95:5).

MS (ESI⁺): $m/z = 1541.0$ [M+H]⁺.

Synthese des 6'-N-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 89 und des 6'-N-deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 91



Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Das vollständig geschützte 6'-N-aminoribosylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **198** (16.0 mg, ~ 10 µmol) wurde mit Trifluoressigsäure (5.0 mL, 80% in Dichlormethan) versetzt und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (20 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der resultierende farblose Feststoff wurde mit Trifluoressigsäure (5.0 mL, 10% in Wasser) versetzt und 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (20 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindungen wurden durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten.

Ausbeute (89): 5.00 mg (3.92 µmol, 37%, über 2 Stufen von **93**) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (89) (analytisch): $t_R = 6.7$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 µL (c ~ 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (89) (semipräparativ): $t_R = 12.3$ min (Methode DWP269, Injektionskonzentration: 15 mg in $H_2O:MeCN$ 95:5 (0.8 mL)).

1H -NMR (89) (500 MHz, D_2O): $\delta = 0.90$ (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, $5'''$ - H_a), 0.95 (d, $J = 5.2$ Hz, 3 H, $5'''$ - H_b), 0.96 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, 4^V - H_a), 1.00 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 4^V - H_b), 1.41-1.54 (m, 2 H, 4^{iv} -H), 1.56-1.77 (m, 6 H, $3'''$ -H, $4'''$ -H, 3^{iv} - H_a , 5^{iv} -H), 1.70-1.86 (m, 1 H, 3^{iv} - H_b), 1.95-2.06 (m, 3 H, $2''$ -H, 2^{vi} - H_a), 2.06-2.15 (m, 1 H, 2^{vi} - H_b), 2.16-2.25 (m, 2 H, $5'$ - H_a , 3^V -H), 2.43-2.49 (m, 1 H, $5'$ - H_b), 3.03 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6^{iv} -H), 3.09 (dd, $J = 11.5$ Hz, $J = 11.1$ Hz, 1 H, 5^{vii} - H_a), 3.16-3.27 (m, 2 H, $1''$ - H_a , $3''$ - H_a), 3.27-3.34 (m, 2 H, $1''$ - H_b , 1^{vi} - H_a), 3.34-3.40 (m, 2 H, $3''$ - H_b , 1^{vi} - H_b), 3.42 (dd, $J = 13.3$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1 H, 5^{vii} - H_b), 3.61-3.67 (m, 1 H, 3^{vi} - H_a), 3.88 (ddd, $J = 6.9$ Hz, $J = 4.3$ Hz, $J = 3.9$ Hz, 1 H, 3^{vi} - H_b), 4.07 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1 H, $6'$ -H), 4.10-4.19 (m, 5 H, $3'$ -H, 2^{iv} -H, 2^V -H, 2^{vii} -H, 4^{vii} -H), 4.22 (dd, $J = 6.3$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 3^{vii} -H), 4.26 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, $4'$ -H), 4.30 (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, $2'''$ -H), 4.55 (dd, $J = 4.9$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, $2'$ -H), 5.03 (s, 1 H, 1^{vii} -H), 5.76 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, $1'$ -H), 5.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C -NMR (89) (126 MHz, D_2O): $\delta = 16.96$ (C_a - 4^V), 18.49 (C_b - 4^V), 20.58 (C_a - $5'''$), 21.95 (C - 4^{iv}), 22.12 (C_b - $5'''$), 24.13 (C - $2''$), 24.19 (C - 2^{vi}), 24.40 (C - $4'''$), 26.25 (C - 5^{iv}), 29.46 (C - $5'$), 29.92 (C - 3^V), 30.68 (C - 3^{iv}), 36.14 (C - $3''$), 39.21 (C - 6^{iv}), 39.52 (C - $3'''$), 43.11 (C - 5^{vii}), 49.65 (C - $1''$), 50.64 (C - 1^{vi}), 52.47 (C - $2'''$), 54.24 (C - 2^{iv}), 58.89 (C - 2^V), 63.30 (C - $6'$), 65.62 (C - 3^{vi}), 72.36 (C - 3^{vii}), 72.42 (C - $2'$), 73.08 (C - $3'$), 74.05 (C - 2^{vii}), 78.26 (C - 4^{vii}), 80.52 (C - $4'$), 92.19 (C - $1'$), 102.29 (C -5), 107.52 (C - 1^{vii}), 116.33 (q, $^1J_{CF} = 291.5$ Hz, $F_3C\text{COO}$), 143.23 (C -6), 151.28 (C -2), 159.51 ($NC(=O)N$), 162.97 (q, $^2J_{CF} = 35.5$ Hz, $F_3C\text{COO}$), 166.09 (C -4), 171.57 (C -7'), 174.76 (C - $1'''$), 175.45 (C - 1^{iv}), 176.71 (C - 1^V).

^{19}F -NMR (89) (282 MHz, D_2O): $\delta = -75.57$ (s, CF_3).

Drehwert (89): $[\alpha]_{20}^D = -11.3$ ($c = 1.3$, H_2O).

Schmelzpunkt (89): $T_m = 145$ °C.

IR (89) (ATR): $\tilde{\nu} = 3066, 2962, 1668, 1556, 1464, 1199, 1131, 1030, 835, 799, 721, 551$.

UV/VIS (89) (MeCN): $\lambda_{\max} = 260$.

MS (89) (ESI⁺): $m/z = 932.5$ $[M+H]^+$.

$C_{40}H_{69}N_9O_{16}$ (932.05)

ber.: 466.7504 $[M+2H]^+$,

$C_{40}H_{69}N_9O_{16} \cdot 3 CF_3COOH$ (1274.11)

gef.: 466.7504 (ESI⁺-HRMS).

Ausbeute (91): 0.75 mg (0.728 μmol , 7%, über 2 Stufen von **93**) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (91) (analytisch): $t_R = 6.9$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μ L (c \sim 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (91) (semipräparativ): $t_R = 16.5$ min (Methode DWP315_2, Injektionskonzentration: 21 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (91) (500 MHz, D₂O): $\delta = 0.80$ (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.85 (d, $J = 4.9$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 0.86 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.90 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.31-1.43 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 1.46-1.67 (m, 6 H, 3'''-H, 4'''-H, 3^{iv}-H_a, 5^{iv}-H), 1.69-1.76 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 1.84-1.95 (m, 4 H, 2''-H, 2^{vi}-H), 2.10 (dq, $J = 6.7$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.14 (ddd, $J = 14.0$ Hz, $J = 10.7$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.37-2.42 (m, 1 H, 5'-H_b), 3.03 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 3.07-3.19 (m, 2 H, 1''-H_a, 3''-H_a), 3.19-3.27 (m, 3 H, 1''-H_b, 3''-H_b, 1^{vi}-H_a), 3.29-3.35 (m, 1 H, 1^{vi}-H_b), 3.60-3.68 (m, 2 H, 3^{vi}-H), 4.00-4.10 (m, 4 H, 3'-H, 6'-H, 2^{iv}-H, 2^v-H), 4.15-4.22 (m, 1 H, 4'-H, 2'''-H), 4.44 (dd, $J = 5.1$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.67 (d, $J = 4.4$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.82 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (91) (126 MHz, D₂O): $\delta = 16.94$ (C_a-4^v), 18.47 (C_b-4^v), 20.61 (C_a-5'''), 22.01 (C-4^{iv}), 22.09 (C_b-5'''), 24.22 (C-2''), 24.38 (C-4'''), 26.21 (C-2^{vi}), 26.24 (C-5^{iv}), 29.34 (C-5'), 29.92 (C-3^v), 30.74 (C-3^{iv}), 36.11 (C-3'''), 39.21 (C-6^{iv}), 39.54 (C-3'''), 49.87 (C-1''), 50.97 (C-1^{vi}), 52.50 (C-2'''), 54.08 (C-2^{iv}), 58.84 (C-2^v), 59.13 (C-3^{vi}), 62.70 (C-6'), 72.47 (C-2'), 73.02 (C-3'), 80.50 (C-4'), 92.01 (C-1'), 102.29 (C-5), 116.33 (q, $^1J_{CF} = 291.5$ Hz, F₃C $\underline{\text{COO}}$), 143.11 (C-6), 151.30 (C-2), 159.48 (NC(=O)N), 162.97 (q, $^2J_{CF} = 35.4$ Hz, F₃C $\underline{\text{COO}}$), 166.10 (C-4), 171.35 (C-7'), 174.73 (C-1'''), 175.35 (C-1^{iv}), 176.70 (C-1^v).

¹⁹F-NMR (91) (282 MHz, D₂O): $\delta = -75.59$ (s, CF₃).

Drehwert (91): $[\alpha]_{20}^D = 6.7$ (c = 0.8, H₂O).

Schmelzpunkt (91): $T_m = 150$ °C.

IR (91) (ATR): $\tilde{\nu} = 2962, 1670, 1556, 1464, 1389, 1262, 1199, 1133, 1065, 834, 800, 768$.

UV/VIS (91) (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 260$.

MS (91) (ESI⁺): $m/z = 801.4$ [M+H]⁺.

C₃₅H₆₀N₈O₁₃ (800.91)

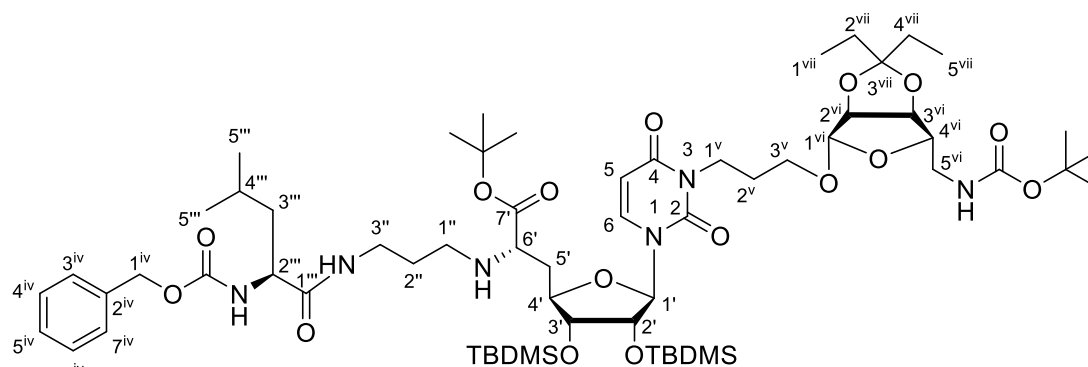
ber.: 401.2213 [M+2H]⁺,

C₃₅H₆₀N₈O₁₃ · 2 CF₃COOH (1028.95)

gef.: 401.2220 (ESI⁺-HRMS).

7.2.11.2 Synthese des *N*3-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **90** und des *N*3-verlinkten deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **92**

Synthese des vollständig geschützten verkürzten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **199**



199

Eine Lösung der *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **181** (81.0 mg, 91.0 μmol) in abs. Acetonitril (10 mL) wurde mit dem Aminoribose-abgeleiteten Tosylat **96** (48.2 mg, 91.0 μmol) und Kaliumcarbonat (13.8 mg, 100 μmol) versetzt und 2 h Raumtemperatur, 2 h bei 40 °C, 2 h bei 60 °C, 2 h bei 70 °C und weitere 16 h am Rückfluss gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (150 ml) verdünnt und mit Wasser (100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (25 g, 2.5 x 11 cm, DCM:MeOH 98:2) erhalten.

Ausbeute (199): 79.1 mg (63.4 μmol , 70%, 80% brsm) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.13$ (DCM:MeOH 96:4).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 0.11$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.87-0.92 (m, 3 H, 5^{vii}-H), 0.88 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1^{vii}-H), 0.89-0.96 (m, 6 H, 5^{iii}-H), 0.91 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.93 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.44 (s, 9 H, $\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.49 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.51-1.56 (m, 2 H, 3^{iii}-H), 1.58 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2^{vii}-H), 1.64-1.72 (m, 3 H, 2^{ii}-H , 4^{iii}-H), 1.67 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 4^{vii}-H), 1.83-1.90 (m, 2 H, 2^{v}-H), 1.88-1.96 (m, 1 H, $5'\text{-H}_a$), 2.02-2.10 (m, 1 H, $5'\text{-H}_b$), 2.52-2.59 (m, 1 H, $1''\text{-H}_a$), 2.60-2.68 (m, 1 H, $1''\text{-H}_b$), 3.13-3.18 (m, 2 H, 5^{vi}-H), 3.21-3.29 (m, 2 H, $3''\text{-H}$),

3.25 (dd, $J = 9.7$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.39-3.46 (m, 1 H, 3^v-H_a), 3.72-3.78 (m, 1 H, 3^v-H_b), 3.85 (dd, $J = 5.3$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1 H, 3'-H), 4.00 (dd, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 2 H, 1^v-H) 4.07-4.13 (m, 2 H, 4'-H, 2'''-H), 4.16 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 7.1$ Hz, 1 H, 4^{vi}-H), 4.31 (dd, $J = 4.3$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 2'-H), 4.55 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 3^{vi}-H), 4.66 (d, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2^{vi}-H), 5.00 (s, 1 H, 1^{vi}-H), 5.05-5.12 (m, 2 H, 1^{iv}-H), 5.80 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 5-H), 7.25-7.38 (m, 5 H, C-3^{iv}, C-4^{iv}, C-5^{iv}, C-6^{iv}, C-7^{iv}), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (126 MHz, CD₃OD): $\delta = -4.47$ (SiCH₃), -4.41 (SiCH₃), -4.17 (SiCH₃), -3.93 (SiCH₃), 7.77 (C-5^{vii}), 8.81 (C-1^{vii}), 18.91 (SiC(CH₃)₃), 18.93 (SiC(CH₃)₃), 22.01 (C_a-5'''), 23.44 (C_b-5'''), 25.94 (C-4'''), 26.47 (SiC(CH₃)₃), 26.48 (SiC(CH₃)₃), 28.47 (C(=O)OC(CH₃)₃), 28.67 (C-2^v), 28.78 (NC(=O)OC(CH₃)₃), 29.91 (C-4^{vii}), 30.35 (C-2^{vii}), 30.73 (C-2''), 37.95 (C-5'), 38.20 (C-3''), 40.04 (C-1^v), 42.28 (C-3'''), 44.62 (C-5^{vi}), 46.09 (C-1'), 55.23 (C-2'''), 60.75 (C-6'), 67.11 (C-3^v), 67.72 (C-1^{iv}), 75.21 (C-2'), 76.52 (C-3'), 80.27 (NC(=O)OC(CH₃)₃), 82.24 (C-4'), 83.03 (C(=O)OC(CH₃)₃), 83.84 (C-2^{vi}), 87.05 (C-3^{vi}), 87.15 (C-4^{vi}), 92.75 (C-1'), 102.41 (C-5), 110.14 (C-1^{vi}), 117.64 (C-3^{vii}), 128.88, 129.04, 129.48 (C-3^{iv}, C-4^{iv}, C-5^{iv}, C-6^{iv}, C-7^{iv}), 138.18 (C-2^{iv}), 140.52 (C-6), 152.33 (C-2), 158.32, 158.35 (Boc-C=O, Cbz-C=O), 164.83 (C-4), 174.56, 175.49 (C-7', C-1''').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -4.5$ ($c = 1.1$, CHCl₃).

Schmelzpunkt: $T_m = 66$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2959, 2930, 2857, 1708, 1663, 1258, 1156, 1091, 802, 778$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 262$.

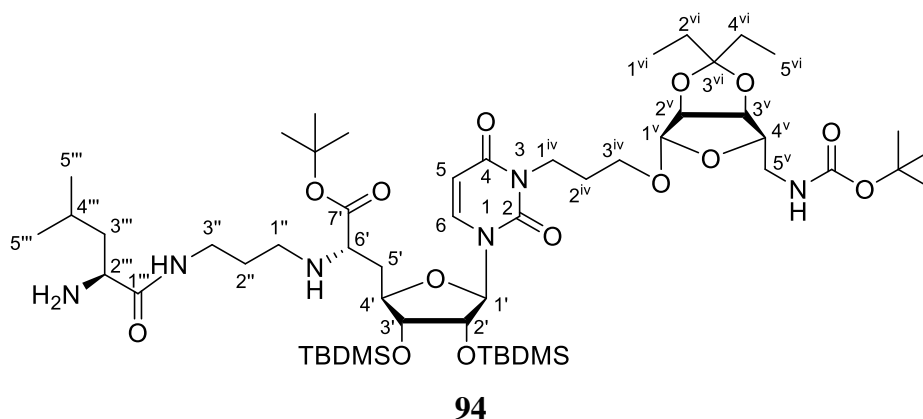
MS (ESI⁺): $m/z = 1247.7$ [M+H]⁺.

C₆₂H₁₀₆N₆O₁₆Si₂ (1247.73)

ber.: 1247.7277 [M+H]⁺,

gef.: 1247.7292 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des *N*-Cbz-entschützten verkürzten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **94**



Variante 1:

Eine Lösung des vollständig geschützten verkürzten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **199** (23.0 mg, 18.0 μmol) in abs. Methanol (3 mL) wurde mit Palladium (10.0 mg, 9.40 μmol , 10% auf Aktivkohle) und 1,4-Cyclohexadien (15.0 μL , 160 μmol) versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit Methanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (94): 16.0 mg ($\sim 14 \mu\text{mol}$, $\sim 75\%$) eines farblosen Wachses.

Variante 2:

Eine Lösung des vollständig geschützten verkürzten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **199** (27.4 mg, 22.0 μmol) in abs. *iso*-Propanol (3 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (21.0 μL , 226 μmol) versetzt. Es wurde Palladium Black (10.0 mg, 94.0 μmol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol (4 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (94): 24.0 mg ($\sim 22 \mu\text{mol}$, $\sim 95\%$) eines farblosen Wachses.

Aufgrund von Rotamerenbildung war eine Charakterisierung anhand von NMR-Spektren nicht möglich. Da die Zielverbindung jedoch zweifelsfrei mittels hochauflösender Massenspektrometrie identifiziert werden konnte wurde auf eine weitere Charakterisierung verzichtet. Auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische

Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm (λ =254 nm) der LC-MS-Analyse, kann nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden. **94** wurde direkt in der folgenden Peptidkupplung umgesetzt.

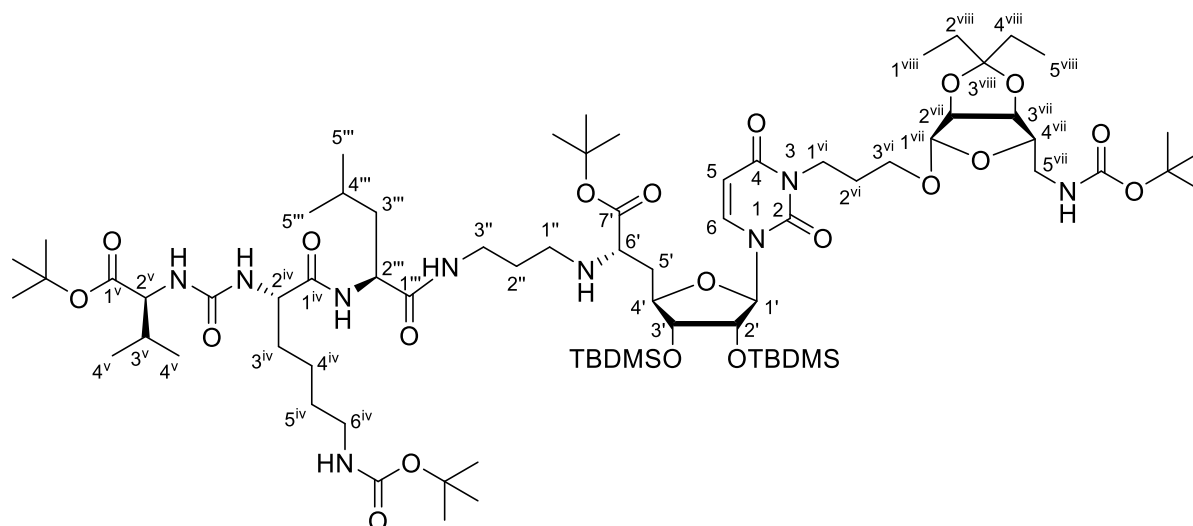
MS (ESI⁺): m/z = 1113.7 [M+H]⁺.

C₅₄H₁₀₀N₆O₁₄Si₂ (1113.59)

ber.: 1113.6909 [M+H]⁺,

gef.: 1113.6905 (ESI⁺-HRMS).

Synthese des vollständig geschützten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons 200



200

Eine Lösung von *O*-*tert*-Butyl-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^c-Boc)-L-lysine **85** (6.30 mg, 14.1 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (2.00 mg, 14.1 μmol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (7.4 mg, 14.1 μmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (4.80 μL, 28.2 μmol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung des *N*-Cbz-entschützten verkürzten *N*3-aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **94** (16.0 mg, ~ 14 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) hinzugegeben, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.0 x 12 cm, DCM:MeOH 97:3) erhalten. Aufgrund der Komplexität der NMR-Spektren wurde Verbindung **200** lediglich per LC-MS Analyse identifiziert, weshalb auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm (λ = 254 nm) der LC-MS-Analyse, nur eine ungefähre Ausbeute

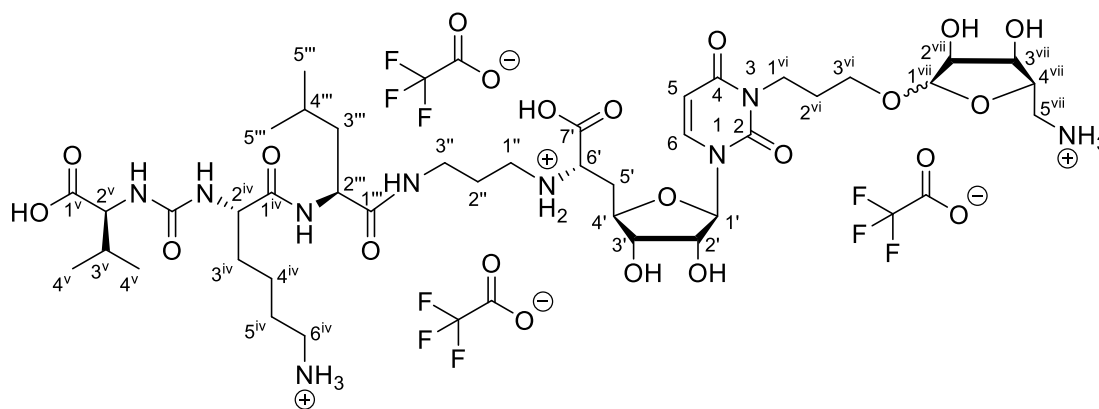
angegeben werden kann. **200** wurde direkt in der folgenden globalen sauren Entschützung umgesetzt.

Ausbeute (200): 18.4 mg ($\sim 12 \mu\text{mol}$, $\sim 85\%$) eines farblosen Feststoffes.

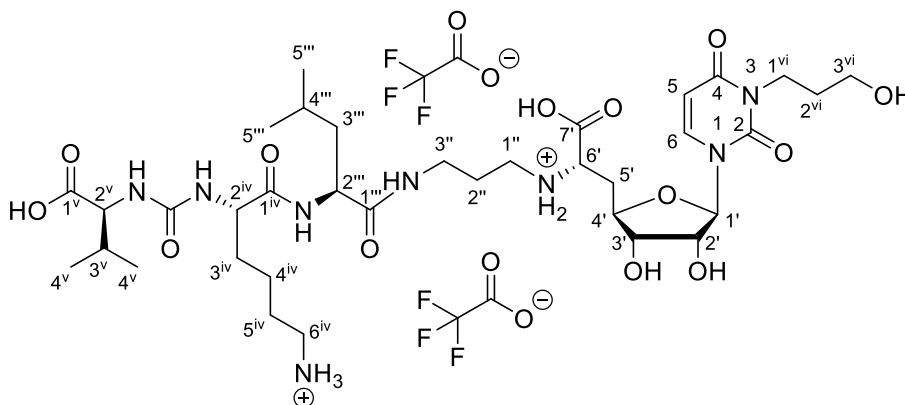
DC: $R_f = 0.21$ (DCM:MeOH 95:5).

MS (ESI^+): $m/z = 1541.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Synthese des *N3*-verlinkten aminoribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **90** und des *N3*-deribosylierten 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **92**



90



92

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Das vollständig geschützte *N3*-aminoribosylierte 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **200** (20.0 mg, $\sim 13 \mu\text{mol}$) wurde mit Trifluoressigsäure (6.0 mL, 80% in Dichlormethan) versetzt und 30 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (20 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der resultierende farblose Feststoff wurde mit Trifluoressigsäure (5.0 mL, 10% in Wasser) versetzt und 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (20 mL) verdünnt und das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindungen wurden durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten, wobei **92** als Reinstoff und **90** als nicht trennbare α/β Anomerenmischung (49:51) erhalten wurde und die weitere Charakterisierung anhand dieses Gemisches durchgeführt wurde.

Ausbeute (90): 5.1 mg (4.00 μ mol, 26%, über 3 Stufen von **199**) eines farblosen Feststoffes als α/β Anomerenmischung (49:51).

HPLC (90) (analytisch): $t_R = 6.5$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μ L (c \sim 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (90) (semipräparativ): $t_R = 14.4$ min (Methode DWP315, Injektionskonzentration: 15 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (90) (500 MHz, D₂O): $\delta = 0.86$ (d, $J = 6.0$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.86 (d, $J = 6.0$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.92 (d, $J = 5.9$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 0.92 (d, $J = 5.9$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 0.93 (2 d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.93 (2 d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.96 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 0.96 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.35-1.51 (m, 2 x 2 H, 2 x 4^{iv}-H), 1.52-1.74 (m, 2 x 6 H, 2 x 3'''-H, 2 x 4'''-H, 2 x 3^{iv}-H_a, 2 x 5^{iv}-H), 1.74-1.84 (m, 2 x 1 H, 2 x 3^{iv}-H_b), 1.86-1.98 (m, 2 x 4 H, 2 x 2''-H, 2 x 2^{vi}-H), 2.16 (dq, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.8$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.16 (dq, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.8$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.32 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 11.3$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.32 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 11.3$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.45 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 2.45 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 2.99 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 2.99 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 3.04-3.13 (m, 2 x 3 H, 2 x 1''-H_b, 2 x 5^{vii}-H_a), 3.21-3.28 (m, 2 x 1 H, 2 x 3''-H_a), 3.29-3.42 (m, 2 x 2 H, 2 x 3''-H_b, 2 x 5^{vii}-H_b), 3.56 (dt, $J = 10.2$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1 H, β -3^{vi}-H_a), 3.63 (dt, $J = 10.4$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 1 H, α -3^{vi}-H_a), 3.79-3.87 (m, 2 x 1 H, 2 x 3^{vi}-H_b), 3.94 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.94 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.97-4.04 (m, 2 x 3 H, 2 x 1^{vi}-H, α -3^{vii}-H, β -2^{vii}-H), 4.04-4.09 (m, 2 x 2 H, 2 x 3'-H, 2 x 2^v-H), 4.09-4.20 (m, 1 x 3 H, 1 x 4 H, 2 x 4'-H, 2 x 2^{iv}-H, α -2^{vii}-H, β -3^{vii}-H, β -4^{vii}-H), 4.20-4.28 (m, 1 x 1 H, 1 x 2 H, 2 x 2'''-H, α -4^{vii}-H), 4.34-4.39 (m, 2 x 1 H, 2 x 2'-H), 4.98 (s, 1 H, β -1^{vii}-H), 5.15 (d, $J = 4.3$ Hz, 1 H, α -1^{vii}-H), 5.79 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.81 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 5.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (90) (126 MHz, D₂O): $\delta = 16.91$ (2 x C_a-4^v), 18.43 (2 x C_b-4^v), 20.58 (2 x C_a-5'''), 21.98 (2 x C-4^{iv}), 22.04 (2 x C_b-5'''), 24.32 (2 x C-4'''), 25.56 (2 x C-2''), 26.20 (2 x C-5^{iv}), 26.65, 26.89 (α -C-2^{vi}, β -C-2^{vi}), 29.87 (2 x C-3^v), 30.70 (2 x C-3^{iv}), 32.67 (2 x C-5'),

35.93 (2 x C-3^v), 38.96, 39.04 (α -C-1^{vi}, β -C-1^{vi}), 39.16 (2 x C-6^{iv}), 39.42 (2 x C-3ⁱⁱⁱ), 41.37, 43.11 (α -C-5^{vii}, β -C-5^{vii}), 44.24 (2 x C-1ⁱⁱ), 52.51 (2 x C-2ⁱⁱⁱ), 54.02 (2 x C-2^{iv}), 58.82 (2 x C-2^v), 59.32 (2 x C-6ⁱ), 66.53 (β -C-3^{vi}), 66.67 (α -C-3^{vi}), 70.54 (β -C-3^{vii}), 70.69 (α -C-3^{vii}), 72.52 (α -C-2^{vii}) 72.88, 72.92 (2 x C-2', 2 x C-3'), 74.07 (β -C-2^{vii}), 78.07 (β -C-4^{vii}), 78.79 (α -C-4^{vii}), 79.29, 79.35 (α -C-4', β -C-4'), 91.79, 92.16 (α -C-1', β -C-1'), 101.64, 101.68 (α -C-5, β -C-5), 102.31 (α -C-1^{vii}), 107.51 (β -C-1^{vii}), 116.29 (q, $^1J_{\text{CF}} = 291.5$ Hz, F₃C $\underline{\text{C}}$ OO), 116.29 (q, $^1J_{\text{CF}} = 291.5$ Hz, F₃C $\underline{\text{C}}$ OO), 140.20, 140.31 (α -C-6, β -C-6), 151.52, 151.57 (α -C-2, β -C-2), 159.46 (2 x NC(=O)N), 162.96 (q, $^2J_{\text{CF}} = 35.5$ Hz, F₃C $\underline{\text{C}}$ OO), 162.96 (q, $^2J_{\text{CF}} = 35.5$ Hz, F₃C $\underline{\text{C}}$ OO), 165.09, 165.15 (α -C-4, β -C-4), 171.80, 171.85 (α -C-7', β -C-7'), 174.85 (2 x C-1ⁱⁱⁱ), 175.40 (2 x C-1^{iv}), 176.69 (2 x C-1^v).

¹⁹F-NMR (90) (282 MHz, D₂O): $\delta = -75.57$ (s, CF₃), -75.57 (s, CF₃).

Drehwert (90): $[\alpha]_{20}^D = 29.3$ (c = 0.7, H₂O).

Schmelzpunkt (90): T_m = 156 °C.

IR (90) (ATR): $\tilde{\nu} = 3293, 3082, 2961, 1649, 1553, 1462, 1182, 1129, 835, 799, 721$.

UV/VIS (90) (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 262$.

MS (90) (ESI⁺): m/z = 932.5 [M+H]⁺.

C₄₀H₆₉N₉O₁₆ (932.05)

ber.: 466.7504 [M+2H]⁺,

C₄₀H₆₉N₉O₁₆ · 3 CF₃COOH (1274.11)

gef.: 466.7507 (ESI⁺-HRMS).

Ausbeute (92): 4.5 mg (4.37 μ mol, 27%, über 3 Stufen von **199**) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (92) (analytisch): $t_R = 6.8$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μ L (c ~ 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (92) (semipräparativ): $t_R = 16.7$ min (Methode DWP315_2, Injektionskonzentration: 15 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (92) (500 MHz, D₂O): $\delta = 0.90$ (d, $J = 5.6$ Hz, 3 H, 5ⁱⁱⁱ-H_a), 0.94-0.97 (m, 6 H, 5ⁱⁱⁱ-H_b, 4^v-H_a), 0.99 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.41-1.53 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 1.55-1.76 (m, 6 H, 3ⁱⁱⁱ-H, 4ⁱⁱⁱ-H, 3^{iv}-H_a, 5^{iv}-H), 1.78-1.85 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 1.88 (tt, $J = 7.1$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 2 H, 2^{vi}-H), 1.94 (ddt, $J = 7.0$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2 H, 2ⁱⁱ-H), 2.19 (dq, $J = 6.7$ Hz, $J = 6.5$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.31 (ddd, $J = 15.1$ Hz, $J = 8.9$ Hz, $J = 6.3$ Hz, 1 H, 5'-H_a), 2.47 (ddd, $J = 15.1$ Hz, $J = 5.8$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1 H, 5'-H_b), 3.03 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 3.07-3.15 (m, 2 H, 1ⁱⁱ-H), 3.28 (ddd, $J = 13.3$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 3ⁱⁱ-H_a), 3.34 (ddd, $J = 13.3$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 3ⁱⁱ-H_b), 3.67 (t, $J = 6.4$ Hz, 2 H, 3^{vi}-H), 3.90 (dd, $J = 6.3$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1 H, 6'-H), 4.01 (t, $J = 7.1$ Hz, 2 H, 1^{vi}-H),

4.08-4.13 (m, 2 H, 3'-H, 2^v-H), 4.15 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1 H, 2^{iv}-H), 4.19 (ddd, $J = 8.9$ Hz, $J = 7.2$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1 H, 4'-H), 4.28 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, 2'''-H), 4.43 (dd, $J = 3.7$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.81 (d, $J = 2.7$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.97 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (92) (126 MHz, D₂O): $\delta = 16.94$ (C_a-4^v), 18.48 (C_b-4^v), 20.64 (C_a-5'''), 22.00 (C-4^{iv}), 22.07 (C_b-5'''), 24.36 (C-4'''), 25.62 (C-2''), 26.23 (C-5^{iv}), 29.34 (C-2^{vi}), 29.94 (C-3^v), 30.76 (C-3^{iv}), 32.87 (C-5'), 35.93 (C-3''), 38.67 (C-1^{vi}), 39.20 (C-6^{iv}), 39.50 (C-3'''), 44.26 (C-1''), 52.54 (C-2'''), 54.00 (C-2^{iv}), 58.91 (C-2^v), 59.32 (C-3^{vi}), 59.93 (C-6'), 72.81 (C-2'), 72.90 (C-3'), 79.80 (C-4'), 92.49 (C-1'), 101.66 (C-5), 116.33 (q, $^1J_{\text{CF}} = 291.9$ Hz, F₃C₂COO), 140.55 (C-6), 151.55 (C-2), 159.46 (NC(=O)N), 162.99 (q, $^2J_{\text{CF}} = 35.5$ Hz, F₃C₂COO), 165.19 (C-4), 172.13 (C-7'), 174.85 (C-1'''), 175.35 (C-1^{iv}), 176.79 (C-1^v).

¹⁹F-NMR (92) (282 MHz, D₂O): $\delta = -75.59$ (s, CF₃).

Drehwert (92): $[\alpha]_{20}^D = 27.0$ ($c = 0.6$, H₂O).

Schmelzpunkt (92): $T_m = 185$ °C.

IR (92) (ATR): $\tilde{\nu} = 3306, 2961, 1645, 1554, 1462, 1199, 1181, 1130, 1084, 836, 800, 721$.

UV/VIS (92) (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 262$.

MS (92) (ESI⁺): $m/z = 801.4$ [M+H]⁺.

C₃₅H₆₀N₈O₁₃ (800.91)

ber.: 401.2213 [M+2H]⁺,

C₃₅H₆₀N₈O₁₃ · 2 CF₃COOH (1028.95)

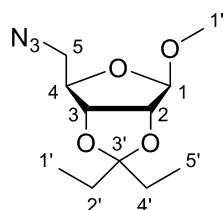
gef.: 401.2217 (ESI⁺-HRMS).

7.2.12 Synthese des naturstoffanalogen (5'S,6'S)-konfigurierten 5'-aminoribosylierten Muraymycin-Analogons 213

7.2.12.1 Glycosylierungsreaktionen mit vereinfachten strukturverwandten Glycosylakzeptoren

Glycosylierungsreaktion mit Methanol

Synthese von 5-Azido-1-O-methyl-2,3-O-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose 202



202

Zu einer auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung der 1-O-Acetyl-5-azido-2,3-O-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose **136** (43.0 mg, 150 μmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) wurde Trimethylsilylbromid (80.0 μL , 610 μmol) getropft und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt, Trimethylsilylbromid (160 μL , 1.22 mmol) hinzuge tropft und weitere 2 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Es folgte eine dritte Zugabe von Trimethylsilylbromid (160 μL , 1.22 mmol) unter gleicher Vorgehensweise. Nach weiteren 2 h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Eine auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlte Lösung von Silbertrifluormethansulfonat (61.0 mg, 240 μmol) in abs. Dichlormethan (3 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit abs. Methanol (8.00 μL , 200 μmol) versetzt und 1 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt, das getrocknete Bromid in abs. Dichlormethan (2 mL) hinzuge tropft und 14 h bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Triethylamin (2 mL) versetzt, über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Dichlormethan (3 x 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 13 cm, *iso*-Hex:Et₂O 80:20) erhalten.

Ausbeute (202): 10.5 mg (40.8 μmol , 27%, 37% brsm) eines farblosen Öls.

DC: $R_f = 0.16$ (*iso*-Hex:EtOAc 90:10).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ = 0.79 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 1'-H), 0.98 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 5'-H), 1.41 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H), 1.68 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'-H), 2.66 (dd, J = 12.5 Hz, J = 6.5 Hz, 1 H, 5-H_a), 2.93 (dd, J = 12.5 Hz, J = 8.0 Hz, 1 H, 5-H_b), 3.03 (s, 3 H, 1''-H), 4.18 (dd, J = 6.0 Hz, J = 0.5 Hz, 1 H, 3-H), 4.22-4.29 (m, 1 H, 4-H), 4.43 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, 2-H), 4.95 (s, 1 H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, C_6D_6): δ = 7.73 (C-5'), 8.56 (C-1'), 29.38 (C-4'), 29.67 (C-2'), 53.88 (C-5), 54.88 (C-1''), 82.75 (C-3), 85.87 (C-2), 85.93 (C-4), 110.46 (C-1), 116.90 (C-3').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -24.2 (c = 1.7, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2972, 2932, 2098, 1463, 1272, 1095, 1045, 962, 923, 824.

UV/VIS (MeCN): keine messbare Absorption.

MS (ESI^+): m/z = 280.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

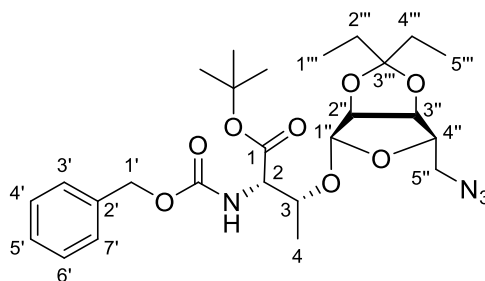
$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ (257.29)

ber.: 280.1268 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 280.1272 (ESI^+ -HRMS).

Glycosylierungsreaktionen mit dem *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101**

Synthese des glycosylierten *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylesters **203**



203

Variante 1:

Zu einer auf -40 °C gekühlten Lösung der 1-*O*-Acetyl-5-azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose **136** (46.0 mg, 161 μmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) wurde Trimethylsilylbromid (84.0 μL , 640 μmol) getropft und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut auf -40 °C gekühlt, Trimethylsilylbromid (169 μL , 1.30 mmol) hinzuge tropft und weitere 1.5 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Es folgten zwei weitere Zugaben von Trimethylsilylbromid (169 μL , 1.30 mmol) unter gleicher Vorgehensweise. Nach jeweils weiteren 1.5 h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Eine auf -20 °C gekühlte Lösung von *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101** (40.0 mg, 129 μmol) in abs. Dichlormethan (3 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde

mit Silbertrifluormethansulfonat (54.0 mg, 210 μmol) versetzt und 1 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt, das getrocknete Bromid in abs. Dichlormethan (2.5 mL) hinzutropft und 14 h bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Triethylamin (2 mL) versetzt, filtriert und mit Dichlormethan (150 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 13 cm, *iso*-Hex:Et₂O 80:20) erhalten.

Ausbeute (203): 7.18 mg (13.4 μmol , 8%, 31% brsm) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Eine auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlte Lösung des Ribosyl-Trichloracetimidats **137** (30.0 mg, 77.4 μmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde mit *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101** (12.0 mg, 38.7 μmol) versetzt und langsam Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (0.4 μL , 2.3 μmol , auf 1% in Dichlormethan verdünnt) hinzutropft. Es wurde 30 min bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, die Reaktionsmischung auf ges. wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) gegeben, mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan (50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 13 cm, *iso*-Hex:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (203): 14.8 mg (27.7 μmol , 72%) eines farblosen Öls.

Variante 3:

Eine Lösung von 5-Azido-1-thioethyl-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose β -**138** (19.0 mg, 66.1 μmol) in abs. Dichlormethan über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde mit *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101** (14.4 mg, 46.6 μmol) versetzt und auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Es wurde mit Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat (DMTST) **109** (68.0 mg, 264 μmol) versetzt und 3.5 h bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ und weitere 1.5 h bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde erneut auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt, mit Triethylamin (1 mL) versetzt, mit Dichlormethan (5 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.5 x 8.0 cm, PE:EtOAc 90:10 \rightarrow 70:30) erhalten.

Ausbeute (203): 9.00 mg (16.8 μmol , 36%, 60% brsm) eines farblosen Öls.

Variante 4:

Das β -Pentenylglycosid **β -139** (14.4 mg, 46.2 μmol) und der *N*-Cbz-L-Threonin-*tert*-butylester **101** (10.9 mg, 46.6 μmol) wurden mit Toluol (2 x 5 mL) coevaporiert und über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) in abs. Dichlormethan (3 mL) gelöst. Unter Lichtausschluss wurde mit *N*-Iodsuccinimid (15.0 mg, 66.5 μmol) versetzt und über 10 min langsam Triethylsilyltrifluormethansulfonat (3.0 μL , 13 μmol , auf 0.5% in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft. Es wurde 10 min gerührt, erneut über 10 min Triethylsilyltrifluormethansulfonat (3.00 μL , 13.3 μmol , 0.5% in Dichlormethan) hinzuge tropft, weitere 10 min gerührt und die Zugabe des Triethylsilyltrifluormethansulfonats auf analoge Weise wiederholt. Es wurde 10 min gerührt, erneut mit *N*-Iodsuccinimid (10.0 mg, 44.3 μmol) versetzt, weitere 10 min gerührt, mit Eis (5 g) versetzt und das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Dichlormethan (70 mL) verdünnt und die organische Phase mit 10%iger Natriumthiosulfatlösung (50 mL), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (50 mL) gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (14 g, 2.5 x 8.0 cm, PE:EtOAc 90:10 \rightarrow 70:30) erhalten.

Ausbeute (203): 4.90 mg (9.17 μmol , 26%, 41% brsm) eines farblosen Öls.

Das α -Anomer der Zielverbindung **203** konnte jeweils nur verunreinigt und in Spuren durch massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Untersuchungen nachgewiesen werden, die an dieser Stelle aber nicht weiter aufgeführt sind.

DC: $R_f = 0.21$ (*iso*-Hex: Et₂O 70:30).

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 0.79$ (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 1'''-H), 0.90-0.99 (m, 6 H, 5'''-H, 4-H), 1.35 (s, 9 H, OC(CH₃)₃), 1.41 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 2'''-H), 1.66 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 4'''-H), 2.88 (dd, $J = 12.6$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 1 H, 5''-H_a), 3.15 (dd, $J = 12.6$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1 H, 5''-H_b), 4.21-4.29 (m, 4 H, 3-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H), 4.42 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1 H, 2-H), 5.08 (d, $J = 12.3$ Hz, 1 H, 1'-H_a), 5.13 (d, $J = 12.3$ Hz, 1 H, 1'-H_b), 5.18 (s, 1 H, 1''-H), 5.58 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, NH), 7.01-7.24 (m, 5 H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆): $\delta = 7.75$ (C-5'''), 8.59 (C-1'''), 16.12 (C-4), 28.01 (OC(CH₃)₃), 29.32 (C-4'''), 29.57 (C-2'''), 53.36 (C-5''), 59.81 (C-2), 67.21 (C-1'), 72.58 (C-3), 81.95 (C-3'''), 82.77 (OC(CH₃)₃), 85.67 (C-2''), 86.34 (C-4''), 106.73 (C-1''), 117.07 (C-3'').

128.35, 128.59, 128.66 (C-3', C-4', C-5', C-6', C-7'), 137.19 (C-2'), 156.91 (Cbz-C=O), 169.73 (C-1).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -30.0$ ($c = 1.7$, CHCl_3).

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2975, 2939, 2102, 1721, 1507, 1155, 1074, 1040, 924, 697$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 206$.

MS (ESI⁺): $m/z = 557.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

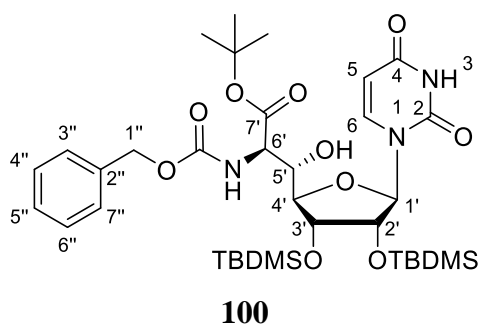
C₂₆H₃₈N₄O₈ (534.61)

ber.: 557.2582 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 557.2587 (ESI⁺-HRMS).

Glycosylierungsreaktionen mit der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure 100

Synthese der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure 100



Zu einer auf $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von Benzyloxycarbonylchlorid (13.0 μL , 92.0 μmol) und Natriumhydrogencarbonat (42.0 mg, 50.0 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (4 mL) wurde langsam eine Lösung der (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **171** (50.0 mg, 83.0 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (3 mL) getropft. Das Gemisch wurde 3 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Ethylacetat (120 mL) verdünnt und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (120 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (25 g, 3.0 x 9.0 cm, *iso*-Hex:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (100): 50.0 mg (67.0 μmol , 81%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.28$ (*iso*-Hex:EtOAc 60:40).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.86 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.46 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 4.05 (d, J = 4.2 Hz, 1 H, 4'-H), 4.10-4.14 (m, 1 H, 3'-H), 4.17 (dd, J = 5.5 Hz, J = 4.2 Hz, 1 H, 5'-H), 4.24 (d, J = 6.3 Hz, 1 H, OH), 4.39 (dd, J = 4.0 Hz, J = 3.7 Hz, 1 H, 2'-H), 4.56 (dd, J = 8.6 Hz, J = 5.5 Hz, 1 H, 6'-H), 5.06 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.14 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 1''-H_b), 5.53 (d, J = 4.0 Hz, 1 H, 1'-H), 5.62 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, 5-H), 5.70 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 6'-NH), 7.28-7.38 (m, 5 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H) 7.69 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, 6-H), 8.71 (s, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = -4.79 (SiCH_3), -4.75 (SiCH_3), -4.75 (SiCH_3), -4.42 (SiCH_3), 17.91 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.02 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.76 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.83 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.91 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 57.99 (C-6'), 67.16 (C-1''), 69.90 (C-5'), 72.36 (C-3'), 73.55 (C-2'), 83.19 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 84.80 (C-4'), 92.59 (C-1'), 102.12 (C-5), 128.08, 128.29, 128.54 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 136.15 (C-2''), 141.97 (C-6), 150.20 (C-2), 156.88 (Cbz-C=O), 162.89 (C-4), 168.99 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D$ = -8.4 (c = 1.2, CHCl_3).

Schmelzpunkt: T_m = 81 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2929, 2856, 1681, 1460, 1253, 1158, 1061, 835, 776, 555.

UV/VIS (MeCN): λ_{max} = 205, 260.

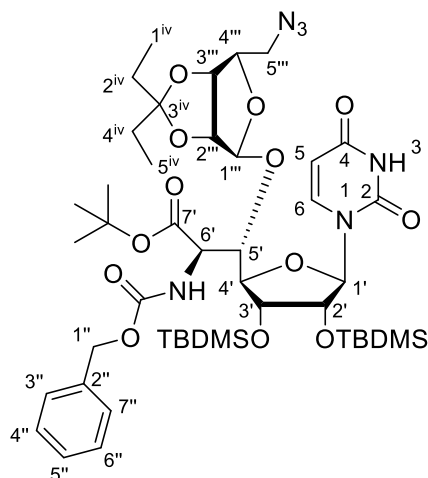
MS (ESI^+): m/z = 758.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{35}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{Si}_2$ (736.02)

ber.: 758.3475 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 758.3441 (ESI^+ -HRMS).

Synthese der glycosylierten *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **102**

**102**

Variante 1:

Zu einer auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung der 1-*O*-Acetyl-5-azido-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy- β -D-ribose **136** (55.0 mg, 193 μmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) wurde Trimethylsilylbromid (100 μL , 758 μmol) getropft und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt, Trimethylsilylbromid (200 μL , 1.52 mmol) hinzuge tropft und weitere 1.5 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Es folgten zwei weitere Zugaben von Trimethylsilylbromid (200 μL , 1.52 mmol) unter gleicher Vorgehensweise. Nach jeweils weiteren 1.5 h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Eine auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlte Lösung der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** (34.0 mg, 46.0 μmol) in abs. Dichlormethan (3 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit Silbertrifluormethansulfonat (49.0 mg, 190 μmol) versetzt und 1 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt, das getrocknete Bromid in abs. Dichlormethan (2 mL) hinzuge tropft und in 14 h unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Triethylamin (2 mL) versetzt, durch Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Dichlormethan (150 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 13 cm, *iso*-Hex:EtOAc 80:20) erhalten.

Ausbeute (102): 5.70 mg (5.90 μmol , 13%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine auf 0 °C gekühlte Lösung des Ribosyl-Trichloracetimidats **137** (27.0 mg, 69.7 µmol) in abs. Dichlormethan (2 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde mit der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** (22.0 mg, 29.9 µmol) versetzt und langsam Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (0.4 µL, 2.3 µmol, auf 1% in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft. Es wurde 1 h bei 0 °C gerührt, erneut langsam Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0.4 µL, 2.3 µmol, auf 1% in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft und weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf ges. wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) gegeben, mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan (50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g, 2.5 x 13 cm, *iso*-Hex:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (102): 12.7 mg (13.2 µmol, 44%, 69% brsm) eines farblosen Feststoffes.

Variante 3:

Eine Lösung von 5-Azido-1-thioethyl-2,3-*O*-(3'-pentyliden)-5-desoxy-β-D-ribose β-**138** (19.4 mg, 67.5 µmol) in abs. Dichlormethan über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde mit der *N*-Cbz-geschützten (5'*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** (19.7 mg, 26.8 µmol) versetzt und auf -15 °C gekühlt. Es wurde mit Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat (DMTST) **109** (26.2 mg, 101 µmol) versetzt und 2 h bei -15 °C und weitere 30 min bei -5 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde erneut auf -15 °C gekühlt, mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 mL) versetzt und mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (60 mL) gewaschen, die wässrige Phase mit Dichlormethan (20 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.5 x 8.0 cm, PE:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (102): 1.30 mg (1.35 µmol, 5%, 13% brsm) eines farblosen Feststoffes.

Variante 4:

Eine Lösung des β -Pentenylglycosids **β -139** (58.0 mg, 185 μ mol) und der *N*-Cbz-geschützten (5*S*,6'*R*)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **100** (102 mg, 139 μ mol) in abs. Dichlormethan (6 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) wurde unter Lichtausschluss mit *N*-Iodsuccinimid (54.1 mg, 241 μ mol) versetzt und es wurde unter Rühren langsam über 15 min Triethylsilyltrifluormethansulfonat (17 μ L, 74 μ mol, auf 1% in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft. Es wurde 15 min gerührt, mit Eis (10 g) versetzt und das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Dichlormethan (150 mL) verdünnt und die organische Phase mit 10%iger Natriumthiosulfatlösung (150 mL), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (150 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (150 mL) gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (25 g, 2.5 x 15 cm, PE:EtOAc 75:25 \rightarrow 70:30) erhalten.

Ausbeute (102): 44.0 mg (45.8 μ mol, 33%, 58% brsm) eines farblosen Feststoffes.

Das α -Anomer der Zielverbindung **102** konnte jeweils nur verunreinigt und in Spuren durch massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Untersuchungen nachgewiesen werden, die an dieser Stelle aber nicht weiter aufgeführt sind.

DC: $R_f = 0.35$ (PE: EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.10$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.11 (s, 3 H, SiCH_3), 0.19 (s, 3 H, SiCH_3), 0.85 (t, $J = 7.6$ Hz, 3 H, 1^{iv}-H), 0.88 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (t, $J = 7.6$ Hz, 3 H, 5^{iv}-H), 0.91 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.46 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.55 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 2^{iv}-H), 1.69 (dq, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 2 H, 4^{iv}-H), 3.22 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 1 H, $5^{\text{iii}}\text{-H}_a$), 3.46 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 5.3$ Hz, 1 H, $5^{\text{iii}}\text{-H}_b$), 3.99 (dd, $J = 7.2$ Hz, 3.8 Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.12-4.15 (m, 2 H, $2'\text{-H}$, $4'\text{-H}$), 4.20 (dd, $J = 4.1$ Hz, 1.5 Hz, 1 H, $5'\text{-H}$), 4.34 (ddd, $J = 6.1$ Hz, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, 1 H, 4^{iii}-H), 4.49 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 2^{iii}-H), 4.61 (dd, $J = 6.1$ Hz, $J = 0.6$ Hz, 1 H, 3^{iii}-H), 4.90 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, $6'\text{-H}$), 5.08 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, 1^{ii}-H_a), 5.15 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, 1^{ii}-H_b), 5.26 (s, 1 H, 1^{iii}-H), 5.66 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1 H, 5-H), 5.68 (d, $J = 1.9$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 5.97 (d, $J = 9.3$ Hz, 1 H, $6'\text{-NH}$), 7.28-7.40 (m, 5 H, $3''\text{-H}$, $4''\text{-H}$, $5''\text{-H}$, $6''\text{-H}$, $7''\text{-H}$), 8.00 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 8.48 (d, $J = 1.8$ Hz, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -5.04$ (SiCH_3), -4.99 (SiCH_3), -3.97 (SiCH_3), -3.71 (SiCH_3), 7.65 ($\text{C-}5^{\text{iv}}$), 8.51 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 18.10 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.10 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$),

25.92 (SiC(CH₃)₃), 25.95 (SiC(CH₃)₃), 28.11 (OC(CH₃)₃), 29.06 (C-4^{iv}), 29.28 (C-2^{iv}), 53.06 (C-5ⁱⁱⁱ), 58.58 (C-6'), 67.29 (C-1ⁱⁱⁱ), 71.04 (C-5'), 74.97 (C-3'), 76.62 (C-2'), 81.98 (C-3ⁱⁱⁱ), 83.16 (OC(CH₃)₃), 83.49 (C-4'), 85.41 (C-2ⁱⁱⁱ), 86.38 (C-4ⁱⁱⁱ), 90.83 (C-1'), 101.49 (C-5), 112.77 (C-1ⁱⁱⁱ), 117.84 (C-3ⁱⁱⁱ), 128.43, 128.65, 128.77 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 136.41 (C-2''), 140.00 (C-6), 149.99 (C-2), 156.71 (Cbz-C=O), 163.03 (C-4), 168.47 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +10.8$ (c = 1.9, CHCl₃).

Schmelzpunkt: T_m = 75 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2931, 2856, 1692, 1461, 1253, 1165, 1070, 833, 777, 673$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 205, 262$.

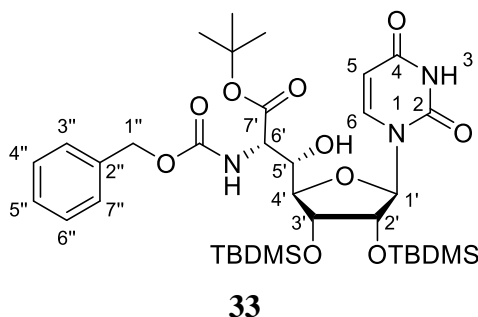
MS (ESI⁺): m/z = 983.5 [M+Na]⁺.

C₄₅H₇₂N₆O₁₃Si₂ (961.27)

ber.: 983.4588 [M+Na]⁺,

gef.: 983.4600 (ESI⁺-HRMS).

7.2.12.2 Synthese der (5'S,6'S)-konfigurierten N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure 33



Zu einer auf -60 °C gekühlten Lösung von Benzyloxycarbonylchlorid (9.90 μ L, 69.5 μ mol) und Natriumhydrogencarbonat (31.8 mg, 379 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde langsam eine Lösung der (5'S,6'S)-konfigurierten Nucleosyl-Aminosäure **172** (38.0 mg, 63.1 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) getropft. Das Gemisch wurde 3 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Ethylacetat (70 mL) verdünnt und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (70 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.5 x 8.0 cm, PE:EtOAc 70:30) erhalten.

Ausbeute (33): 37.4 mg (50.8 μ mol, 80%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.23$ (*iso*-Hex:EtOAc 60:40).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.02$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.06 (s, 3 H, SiCH_3), 0.07 (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.87 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.45 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 4.02 (m, 2 H, 3'-H, OH), 4.09 - 4.15 (m, 2 H, 2'-H, 4'-H), 4.39 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 5'-H), 4.50 (dd, $J = 5.0$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 6'-H), 5.09 (d, $J = 12.3$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 5.12 (d, $J = 12.3$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 5.43 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.52 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, 6'-NH), 5.70 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 5-H), 7.28 - 7.37 (m, 5 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H, 7''-H), 7.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 6-H), 8.25 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.73$ (SiCH_3), -4.63 (SiCH_3), -4.46 (SiCH_3), -4.26 (SiCH_3), 18.11 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.18 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.97 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.03 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 57.85 (C-6'), 67.36 (C-1''), 71.00 (C-5'), 73.09 (C-3'), 73.19 (C-2'), 83.31 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 85.54 (C-4'), 94.17 (C-1'), 102.42 (C-5), 128.30 , 128.41 , 128.68 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 142.97 (C-6), 150.13 (C-2), 156.57 (Cbz-C=O), 162.56 (C-4), 169.41 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -9.3$ ($c = 1.1$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 167$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2930, 2857, 1731, 1697, 1668, 1253, 1158, 1122, 835, 777$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 205, 260$.

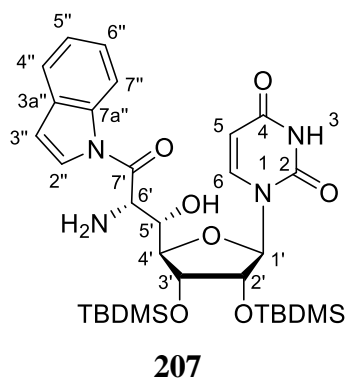
MS (ESI^+): $m/z = 758.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{35}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{Si}_2$ (736.02)

ber.: 758.3475 $[\text{M}+\text{Na}]^+$,

gef.: 758.3470 (ESI^+ -HRMS).

7.2.12.3 Synthese des Amino-Indolamids 207



Eine Lösung des Azido-Indolamids **180** (60.0 mg, 89.4 μmol) in abs. *iso*-Propanol (4 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (83.0 μL , 894 μmol) versetzt. Es wurde Palladium Black (20.0 mg, 188 μmol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das

Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (207): 57.7 mg (89.4 μ mol, quant.) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.04 (s, 3 H, SiCH_3), 0.04 (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.89 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.94 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 3.62 (d, J = 6.4 Hz, 1 H, 6'-H), 3.86 (dd, J = 6.5 Hz, J = 1.3 Hz, 1 H, 5'-H), 4.10 (dd, J = 2.8 Hz, J = 1.3 Hz, 1 H, 4'-H), 4.19 (dd, J = 4.5 Hz, J = 2.9 Hz, 1 H, 3'-H), 4.39 (dd, J = 6.0 Hz, J = 4.5 Hz, 1 H, 2'-H), 5.74 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 5-H), 5.94 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, 1'-H), 6.42 (dd, J = 3.1 Hz, J = 0.9 Hz, 1 H, 3''-H), 6.98 (ddd, J = 8.0 Hz, J = 7.1 Hz, J = 1.0 Hz, 1 H, 5''-H), 7.07 (ddd, J = 8.2 Hz, J = 7.1 Hz, J = 1.2 Hz, 1 H, 6''-H), 7.20 (d, J = 3.1 Hz, 1 H, 2''-H), 7.36 (dd, J = 8.2 Hz, J = 1.8 Hz, 1 H, 7''-H), 7.52 (ddd, J = 8.0 Hz, J = 1.2 Hz, J = 0.9 Hz, 1 H, 4''-H), 8.16 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.58 (SiCH_3), -4.47 (SiCH_3), -4.37 (SiCH_3), -4.20 (SiCH_3), 18.89 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.36 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.37 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 58.34 (C-6'), 72.29 (C-5'), 75.04 (C-3'), 76.25 (C-2'), 87.72 (C-4'), 89.78 (C-1'), 102.21 (C-3''), 103.10 (C-5), 112.07 (C-7''), 119.92 (C-5''), 121.12 (C-4''), 122.13 (C-6''), 125.41 (C-2''), 129.43 (C-7a''), 137.65 (C-3a''), 142.84 (C-6), 152.51 (C-2), 166.03 (C-4), 174.81 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +15.4$ ($c = 1.3$, MeOH).

Schmelzpunkt: $T_m = 65$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3312, 2929, 2857, 1734, 1578, 1389, 1337, 1251, 1157, 1084, 939, 741$.

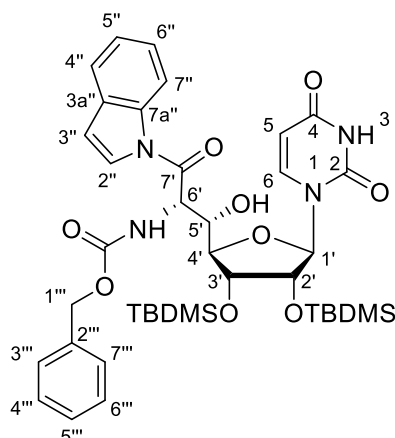
UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 264$.

MS (ESI^+): $m/z = 645.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_7\text{Si}_2$ (644.92)

ber.: 645.3134 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 645.3137 (ESI^+ -HRMS).

7.2.12.4 Synthese des Cbz-geschützten Indolamids **208****208**

Zu einer auf $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von Benzyloxycarbonylchlorid ($13.0\text{ }\mu\text{L}$, $90.4\text{ }\mu\text{mol}$) und Natriumhydrogencarbonat (41.4 mg , $493\text{ }\mu\text{mol}$) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) wurde langsam eine Lösung des Amino-Indolamids **207** (53.0 mg , $82.2\text{ }\mu\text{mol}$) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) getropft. Das Gemisch wurde 3 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Ethylacetat (70 mL) verdünnt und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (70 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (20 g , $2.5 \times 11\text{ cm}$, DCM:EtOAc $90:10$) erhalten.

Ausbeute (208): 45.6 mg ($58.5\text{ }\mu\text{mol}$, 71%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.20$ (PE:EtOAc $70:30$).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz , CDCl_3): $\delta = -0.11$ (s, 3 H , SiCH_3), -0.02 (s, 3 H , SiCH_3), 0.02 (s, 3 H , SiCH_3), 0.04 (s, 3 H , SiCH_3), 0.79 (s, 9 H , $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.85 (s, 9 H , $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 4.09 (dd, $J = 5.0\text{ Hz}$, $J = 2.3\text{ Hz}$, 1 H , $3'\text{-H}$), $4.12\text{--}4.20$ (m, 1 H , $4'\text{-H}$), 4.24 (dd, $J = 7.1\text{ Hz}$, $J = 4.8\text{ Hz}$, 1 H , $5'\text{-H}$), 4.49 (d, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1 H , OH), 4.54 (dd, $J = 6.1\text{ Hz}$, $J = 5.0\text{ Hz}$, 1 H , $2'\text{-H}$), 5.09 (d, $J = 12.2\text{ Hz}$, 1 H , $1''\text{-H}_a$), 5.15 (d, $J = 6.1\text{ Hz}$, 1 H , $1'\text{-H}$), 5.17 (d, $J = 12.2\text{ Hz}$, 1 H , $1''\text{-H}_b$), 5.25 (dd, $J = 7.1\text{ Hz}$, $J = 6.5\text{ Hz}$, 1 H , $6'\text{-H}$), 5.59 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1 H , 5-H), 5.97 (d, $J = 6.5\text{ Hz}$, 1 H , $6'\text{-NH}$), 6.66 (d, $J = 3.0\text{ Hz}$, 1 H , $3''\text{-H}$), $7.25\text{--}7.37$ (m, 8 H , 6-H , $5''\text{-H}$, $6''\text{-H}$, $3'''\text{-H}$, $4'''\text{-H}$, $5'''\text{-H}$, $6'''\text{-H}$, $7'''\text{-H}$), 7.57 (dd, $J = 6.2\text{ Hz}$, $J = 2.5\text{ Hz}$, 1 H , $7''\text{-H}$), 7.69 (s, 1 H , 3-NH), 7.71 (d, $J = 3.0\text{ Hz}$, 1 H , $2''\text{-H}$), 8.28 (dd, $J = 6.9\text{ Hz}$, $J = 2.2\text{ Hz}$, 1 H , $4''\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz , CDCl_3): $\delta = -4.98$ (SiCH_3), -4.58 (SiCH_3), -4.50 (SiCH_3), -4.50 (SiCH_3), 17.99 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.12 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.81 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$),

bei -10 °C mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (2.5 µL, 20 µmol, auf 0.1 M in Dichlormethan verdünnt) versetzt und 2 h bei 10 °C und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 mL) versetzt. Es wurde mit Ethylacetat (70 mL) verdünnt, die organische Phase mit ges. wässriger Natriumchloridlösung (70 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.0 x 14 cm, DCM:EtOAc 95:5 → 90:10) erhalten.

Ausbeute (209): 1.5 mg (1.49 µmol, 6%, 12% brsm) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung des β -Pentenylglycosids **β -139** (15.7 mg, 50.4 µmol) und des *N*-Cbz-geschützten Indolamids **208** (28.2 mg, 36.2 µmol) in abs. Dichlormethan (3 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde unter Lichtausschluss mit *N*-Iodsuccinimid (16.3 mg, 72.5 µmol) versetzt und es wurde unter Rühren langsam über 10 min Triethylsilyltrifluormethansulfonat (5.5 µL, 24 µmol, auf 1% in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft. Es wurde 10 min gerührt, mit Eis (5 g) versetzt und das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Dichlormethan (70 mL) verdünnt und die organische Phase mit 10%iger Natriumthiosulfatlösung (70 mL), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (70 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (70 mL) gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (14 g, 2.0 x 12 cm, PE:EtOAc 75:25 → 70:30 → 65:35) erhalten.

Ausbeute (209): 9.90 mg (10.3 µmol, 27%, 44% brsm) eines farblosen Feststoffes.

Das α -Anomer der Zielverbindung **209** konnte jeweils nur verunreinigt und in Spuren durch massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Untersuchungen nachgewiesen werden, die an dieser Stelle aber nicht weiter aufgeführt sind.

DC: $R_f = 0.28$ (PE:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = -0.05$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.01 (s, 3 H, SiCH_3), 0.03 (s, 3 H, SiCH_3), 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.78 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.82-0.88 (m, 3 H, 1^v-H) 0.85 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88-0.95 (m, 3 H, 5^v), 1.55 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 2^v-H), 1.69 (dq, $J = 7.4$ Hz, $J = 2.3$ Hz 2 H, 4^v-H), 3.41-3.49 (m, 1 H, 5^{iv}-H_a), 3.52 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H,

5^{iv}-H_b), 3.98 (dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.03 (dd, $J = 5.3$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, $2'\text{-H}$), 4.10 (dd, $J = 3.5$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, $4'\text{-H}$), 4.24 (ddd, $J = 6.3$ Hz, $J = 4.1$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 4^{iv}-H), 4.42 (dd, $J = 5.5$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}$), 4.46 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 2^{iv}-H), 4.59 (dd, $J = 6.6$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 3^{iv}-H), 5.00 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, $1'''\text{-H}_a$), 5.26 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, $1'''\text{-H}_b$), 5.26 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 1^{iv}-H), 5.34 (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1 H, $6'\text{-H}$), 5.42 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1 H, 5-H), 5.68 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 6.41 (d, $J = 7.4$ Hz, 1 H, $6'\text{-NH}$), 6.63 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H, $3''\text{-H}$), 7.26-7.39 (m, 7 H, $5''\text{-H}$, $6''\text{-H}$, $3'''\text{-H}$, $4'''\text{-H}$, $5'''\text{-H}$, $6'''\text{-H}$, $7'''\text{-H}$), 7.43 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 7.54 (dd, $J = 6.9$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1 H, $7''\text{-H}$), 7.80 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H, $2''\text{-H}$), 8.12 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H, 3-NH), 8.33 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H, $4''\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.71$ (SiCH_3), -4.71 (SiCH_3), -4.63 (SiCH_3), -4.24 (SiCH_3), 7.82 (C-5^{v}), 8.51 (C-1^{v}), 17.94 ($\text{SiC}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 18.17 ($\text{SiC}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 25.72 ($\text{SiC}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 25.87 ($\text{SiC}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 29.04 (C-4^{v}), 29.41 (C-2^{v}), 52.87 (C-5^{iv}), 55.31 ($\text{C-6}'$), 67.55 ($\text{C-1}'''$), 72.54 ($\text{C-3}'$), 74.85 ($\text{C-2}'$), 79.57 ($\text{C-5}'$), 81.10 (C-3^{iv}), 83.82 (C-4^{iv}), 84.59 ($\text{C-4}'$), 85.37 (C-2^{iv}), 88.39 ($\text{C-1}'$), 102.05 (C-5), 109.68 ($\text{C-3}''$), 112.12 (C-1^{iv}), 116.76 ($\text{C-4}''$), 119.05 (C-3^{iv}), 121.02 ($\text{C-7}''$), 124.54 ($\text{C-6}''$), 125.26 ($\text{C-5}''$), 125.83 ($\text{C-2}''$), 128.65 , 128.76 , 130.83 ($\text{C-3}'''$, $\text{C-4}'''$, $\text{C-5}'''$, $\text{C-6}'''$, $\text{C-7}'''$), 130.83 ($\text{C-7a}''$), 136.00 , 136.15 ($\text{C-3a}''$, $\text{C-2}'''$), 139.52 (C-6), 149.97 (C-2), 156.21 (Cbz-C=O), 162.65 (C-4), 168.90 (C-7).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +18.6$ ($c = 1.6$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 80$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2930, 2857, 2104, 1691, 1453, 1259, 1206, 1081, 1045, 834, 775$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 246, 301$.

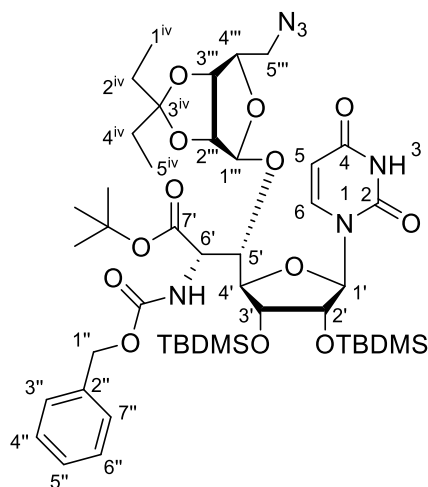
MS (ESI⁺): $m/z = 1004.5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{49}\text{H}_{69}\text{N}_7\text{O}_{12}\text{Si}_2$ (1004.30)

ber.: 1004.4616 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 1004.4628 (ESI⁺-HRMS).

7.2.12.6 Synthese der glycosylierten (5'S,6'S)-konfigurierten *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **99**

**99**

Variante 1:

Eine Lösung des glycosylierten *N*-Cbz-geschützten Indolamids **209** (12.9 mg, 12.8 μmol) in abs. Tetrahydrofuran (1.5 mL) wurde mit entgaster wässriger Lithiumhydroxidlösung (250 μL , 25.0 μmol , 0.1 M) versetzt und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut entgaste wässrige Lithiumhydroxidlösung (100 μL , 10.0 μmol , 0.1 M) hinzugegeben und weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf ges. wässrige Ammoniumchloridlösung (30 mL) gegeben, die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 30 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Der resultierende violett, grau, braune, viskose Rückstand wurde in abs. Dichlormethan (1.5 mL) gelöst und mit *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (12.0 μL , 64.2 μmol) versetzt. Es wurde 11 d bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 3 d, 6 d und 8 d erneut *tert*-Butyl-2,2,2-trichloracetimidat (3 x 12.0 μL , 64.2 μmol) zugegeben wurde. Weiterhin wurde jeweils nach 2 d abs. Dichlormethan (1 mL) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (40 mL) verdünnt, mit Wasser (3 x 30 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (10 g, 2.0 x 8.0 cm, DCM:EtOAc 90:10) erhalten.

Ausbeute (99): 3.5 mg (3.64 μmol , 28%) eines farblosen Feststoffes.

Variante 2:

Eine Lösung des β -Pentenylglycosids β -**139** (20.1 mg, 64.5 μ mol) und der (5'S,6'S)-konfigurierten *N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **33** (35.6 mg, 48.4 μ mol) in abs. Dichlormethan (3 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde unter Lichtausschluss mit *N*-Iodsuccinimid (18.9 mg, 83.9 μ mol) versetzt und es wurde unter Rühren langsam über 10 min Triethylsilyltrifluormethansulfonat (5.8 μ L, 26 μ mol, auf 1% in Dichlormethan verdünnt) hinzuge tropft. Es wurde 15 min gerührt, mit Eis (5 g) versetzt und das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Es wurde mit Dichlormethan (70 mL) verdünnt und die organische Phase mit 10%iger Natriumthiosulfatlösung (70 mL), ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (70 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (70 mL) gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (15 g, 2.0 x 12 cm, PE:EtOAc 75:25 \rightarrow 70:30) erhalten.

Ausbeute (99): 16.6 mg (17.3 μ mol, 36%, 58% brsm) eines farblosen Feststoffes.

Das α -Anomer der Zielverbindung **99** konnte jeweils nur verunreinigt und in Spuren durch massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Untersuchungen nachgewiesen werden, die an dieser Stelle aber nicht weiter aufgeführt sind.

DC: $R_f = 0.28$ (*iso*-Hex: EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.07$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.08 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.83 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 1^{iv}-H), 0.88 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 5^{iv}-H), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.45 (s, 9 H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.53 (q, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 2^{iv}-H), 1.66 (dq, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 2 H, 4^{iv}-H), 3.55 (dd, $J = 13.0$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 1 H, $5^{\text{iii}}\text{-H}_a$), 3.72 (dd, $J = 13.0$ Hz, $J = 3.9$ Hz, 1 H, $5^{\text{iii}}\text{-H}_b$), 3.94 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.13 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1 H, $4'\text{-H}$), 4.16 (dd, $J = 4.1$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1 H, $2'\text{-H}$), 4.31-4.34 (m, 1 H, 4^{iii}-H), 4.39 (dd, $J = 2.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1 H, $5'\text{-H}$), 4.48 (d, $J = 6.3$ Hz, 1 H, 2^{iii}-H), 4.51 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1 H, $6'\text{-H}$), 4.64 (dd, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 3^{iii}-H), 4.97 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, 1^{ii}-H_a), 5.14 (s, 1 H, 1^{iii}-H), 5.24 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, 1^{ii}-H_b), 5.44 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, $1'\text{-H}$), 5.60 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.1$ Hz, 1 H, 5-H), 6.15 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, $6'\text{-NH}$), 7.24-7.36 (m, 5 H, $3''\text{-H}$, $4''\text{-H}$, $5''\text{-H}$, $6''\text{-H}$, $7''\text{-H}$), 7.82 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 6-H), 8.02 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.86$ (SiCH_3), -4.84 (SiCH_3), -4.17 (SiCH_3), -3.89 (SiCH_3), 7.55 ($\text{C-}5^{\text{iv}}$), 8.52 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 18.12 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.17 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$),

25.97 (SiC(CH₃)₃), 26.01 (SiC(CH₃)₃), 28.08 (OC(CH₃)₃), 28.93 (C-4^{iv}), 29.39 (C-2^{iv}), 53.46 (C-5^{'''}), 56.53 (C-6'), 66.99 (C-1^{'''}), 71.51 (C-5'), 74.83 (C-3'), 77.78 (C-2'), 81.75 (C-3^{'''}), 82.68 (OC(CH₃)₃), 85.27 (C-4^{'''}), 85.99 (C-4'), 86.44 (C-2^{'''}), 90.63 (C-1'), 101.12 (C-5), 112.26 (C-1^{'''}), 117.92 (C-3^{'''}), 128.33, 128.40, 127.68 (C-3'', C-4'', C-5'', C-6'', C-7''), 136.77 (C-2''), 140.84 (C-6), 149.91 (C-2), 156.40 (Cbz-C=O), 162.94 (C-4), 168.79 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -7.0$ (c = 0.7, CHCl₃).

Schmelzpunkt: T_m = 72 °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2930, 2857, 2104, 1685, 1457, 1253, 1160, 1059, 835, 775$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 261$.

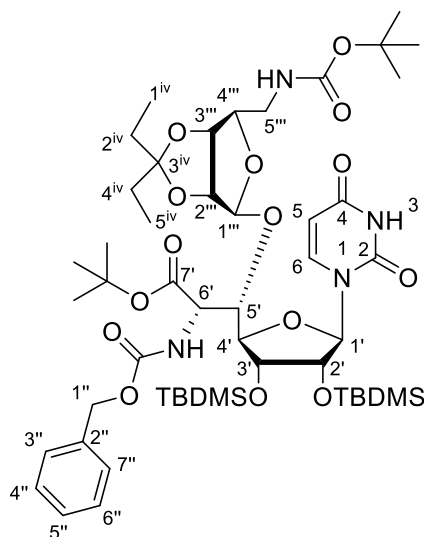
MS (ESI⁺): m/z = 961.5 [M+H]⁺.

C₄₅H₇₂N₆O₁₃Si₂ (961.27)

ber.: 961.4769 [M+H]⁺,

gef.: 961.4778 (ESI⁺-HRMS).

7.2.12.7 Synthese der glycosylierten (5'S,6'S)-konfigurierten N-Boc-N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure 210



210

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung der glycosylierten (5'S,6'S)-konfigurierten N-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **99** (36.5 mg, 38.9 μ mol) in abs. THF/Toluol (1:1, 3.6 mL) wurde mit Triphenylphosphan (30.0 mg, 114 μ mol) und Wasser (34.2 μ L, 1.90 mmol) versetzt und 4 h und 30 min bei 50 °C gerührt. Es wurde auf 0 °C gekühlt, Di-*tert*-butyldicarbonat (33.1 mg, 152 μ mol) und Natriumhydrogencarbonat (6.40 mg, 75.9 μ mol) hinzugefügt und weitere 1.5 h bei

Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser (50 mL) versetzt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumchloridlösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (10 g, 2.0 x 10 cm, PE:EtOAc 75:25) erhalten.

Ausbeute (210): 20.6 mg (19.9 μmol , 52%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.24$ (PE:EtOAc 70:30).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.05$ (s, 3 H, SiCH_3), 0.06 (s, 3 H, SiCH_3), 0.07 (s, 3 H, SiCH_3), 0.09 (s, 3 H, SiCH_3), 0.78-0.95 (m, 6 H, 1^{iv}-H , 5^{iv}-H), 0.85 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.42 (s, 9 H, $\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.46 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.47-1.54 (m, 2 H, 2^{iv}-H), 1.59-1.68 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 3.10-3.20 (m, 1 H, $5'''\text{-H}_a$), 3.35-3.45 (m, 1 H, $5'''\text{-H}_b$), 3.99 (dd, $J = 3.7$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1 H, $3'\text{-H}$), 4.10 (dd, $J = 3.7$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1 H, $4'\text{-H}$), 4.24-4.30 (m, 2 H, $5'\text{-H}$, $4'''\text{-H}$), 4.45-4.52 (m, 3 H, $2'\text{-H}$, $6'\text{-H}$, $2'''\text{-H}$), 4.58 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, $3'''\text{-H}$), 5.05 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, $1''\text{-H}_a$), 5.15 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, $1''\text{-H}_b$), 5.23 (s, 1 H, $1'''\text{-H}$), 5.51-5.59 (m, 2 H, $1'\text{-H}$, $6'\text{-NH}$), 5.65 (dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, $5'''\text{-NH}$), 5.74 (d, $J = 7.3$ Hz, 1 H, 5-H), 7.28-7.38 (m, 5 H, $3''\text{-H}$, $4''\text{-H}$, $5''\text{-H}$, $6''\text{-H}$, $7''\text{-H}$), 7.59 (d, $J = 7.3$ Hz, 1 H, 6-H), 8.23 (s, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.96$ (SiCH_3), -4.70 (SiCH_3), -4.70 (SiCH_3), -4.32 (SiCH_3), 7.51 ($\text{C-}5^{\text{iv}}$), 8.37 ($\text{C-}1^{\text{iv}}$), 17.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.00 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.74 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.80 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.90 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 28.38 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 28.83 ($\text{C-}4^{\text{iv}}$), 29.12 ($\text{C-}2^{\text{iv}}$), 43.33 ($\text{C-}5'''$), 56.43 ($\text{C-}6'$), 67.23 ($\text{C-}1''$), 72.42 ($\text{C-}3'$), 73.64 ($\text{C-}2'$), 79.10 ($\text{C-}5'$), 79.51 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 81.86 ($\text{C-}3'''$), 83.36 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 85.06 ($\text{C-}4'$), 86.17 ($\text{C-}2'''$), 86.84 ($\text{C-}4'''$), 91.45 ($\text{C-}1'$), 102.02 ($\text{C-}5$), 112.45 ($\text{C-}1''$), 117.34 ($\text{C-}3'''$), 128.29, 128.41, 127.48 ($\text{C-}3''$, $\text{C-}4''$, $\text{C-}5''$, $\text{C-}6''$, $\text{C-}7''$), 136.00 ($\text{C-}2''$), 141.90 ($\text{C-}6$), 149.95 ($\text{C-}2$), 156.02 (Cbz-C=O , Boc-C=O), 162.64 ($\text{C-}4$), 168.71 ($\text{C-}7'$).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +9.7$ ($c = 1.6$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: $T_m = 85$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2930, 2856, 1691, 1457, 1367, 1252, 1158, 1060, 835, 776$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\text{max}} = 260$.

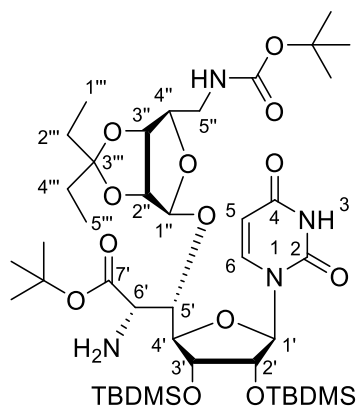
MS (ESI^+): $m/z = 1035.5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{50}\text{H}_{82}\text{N}_4\text{O}_{15}\text{Si}_2$ (1035.39)

ber.: 1035.5388 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

gef.: 1035.5404 ($\text{ESI}^+\text{-HRMS}$).

7.2.12.8 Synthese der glycosylierten (5'S,6'S)-konfigurierten *N*-Boc-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **211**

**211**

Eine Lösung der glycosylierten (5'S,6'S)-konfigurierten *N*-Boc-*N*-Cbz-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **210** (18.0 mg, 17.4 μmol) in abs. *iso*-Propanol (2 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (16.2 μL , 174 μmol) versetzt. Es wurde Palladium Black (20.0 mg, 188 μmol) hinzugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut mit 1,4-Cyclohexadien (16.2 μL , 174 μmol) und Palladium Black (20.0 mg, 188 μmol) versetzt und weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten.

Ausbeute (211): 15.7 mg (17.4 μmol , quant.) eines farblosen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 0.13 (s, 3 H, SiCH_3), 0.14 (s, 3 H, SiCH_3), 0.16 (s, 3 H, SiCH_3), 0.19 (s, 3 H, SiCH_3), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, 1'''-H), 0.88-0.94 (m, 3 H, 5'''-H), 0.92 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.96 (s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.45 (s, 9 H, $\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.50 (s, 9 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.57 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'''-H), 1.68 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, 4'''-H), 3.18 (dd, J = 13.6 Hz, J = 6.6 Hz, 1 H, 5''-H_a), 3.28-3.35 (m, 1 H, 5''-H_b), 3.66 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, 6'-H), 4.14 (dd, J = 4.0 Hz, J = 3.9 Hz, 1 H, 3'-H), 4.17-4.25 (m, 3 H, 4'-H, 5'-H, 4''-H), 4.43 (dd, J = 4.3 Hz, J = 3.9 Hz, 1 H, 2'-H), 4.66 (d, J = 5.9 Hz, 1 H, 2''-H), 4.72 (d, J = 5.9 Hz, 1 H, 3''-H), 5.25 (s, 1 H, 1''-H), 5.81 (d, J = 4.3 Hz, 1 H, 1'-H), 5.84 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.91 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ = -4.48 (SiCH_3), -4.36 (SiCH_3), -4.13 (SiCH_3), -3.82 (SiCH_3), 7.83 (C-5'''), 8.78 (C-1'''), 18.90 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.94 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.44 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.46 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 28.34 ($\text{C}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 28.78 ($\text{NC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 29.86 (C-4'''), 30.36 (C-2'''), 44.15 (C-5''), 58.72 (C-6'), 73.73 (C-3'), 73.87 (C-2'), 80.33 (C-5',

NC(=O)OC(CH₃)₃, 82.86 (C-4'), 83.29 (C-3''), 83.39 (C(=O)OC(CH₃)₃), 87.61 (C-2'', C-4''), 91.12 (C-1'), 103.02 (C-5), 114.14 (C-1''), 116.19 (C-3'''), 142.88 (C-6), 152.25 (C-2), 158.57 (Boc-C=O), 166.12 (C-4), 172.97 (C-7').

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = -20.0$ ($c = 1.5$, MeOH).

Schmelzpunkt: $T_m = 77$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2929, 2856, 1690, 1459, 1366, 1252, 1163, 1102, 836, 776$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 261$.

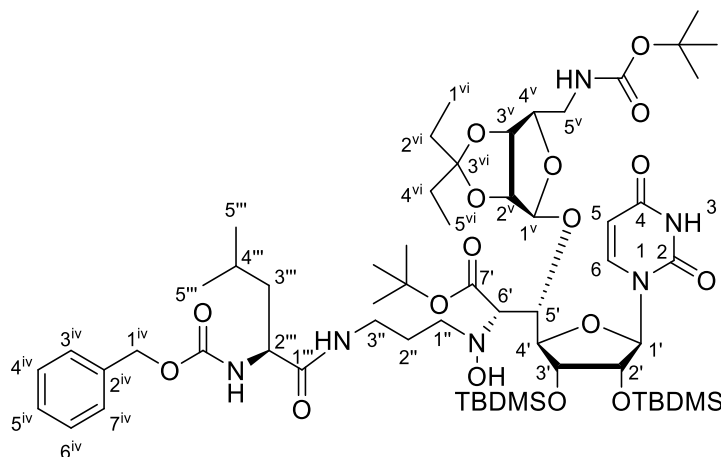
MS (ESI⁺): $m/z = 901.5$ [M+H]⁺.

C₄₂H₇₆N₄O₁₃Si₂ (901.26)

ber.: 901.5020 [M+H]⁺,

gef.: 901.5027 (ESI⁺-HRMS).

7.2.12.9 Synthese der glycosylierten *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-Nucleosyl-Aminosäure **214**



214

Eine Lösung der glycosylierten (5'*S*,6'*S*)-konfigurierten *N*-Boc-geschützten Nucleosyl-Aminosäure **211** (15.7 mg, 17.4 μ mol) in abs. Dichlormethan (2 mL) über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) wurde mit 2-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-*N*-(3'-oxopropyl)-L-leucinamid **88** (6.50 mg, 20.4 μ mol) und Eisessig (11.0 μ L, 193 μ mol) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (1 mL) versetzt, filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (50 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mL) und ges. wässriger Natriumchloridlösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel

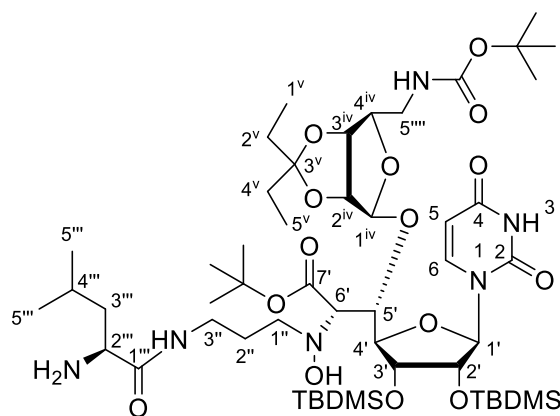
(10 g, 1.5 x 13 cm, PE:EtOAc 60:40 → 50:50) erhalten. Aufgrund von Rotamerenbildung war eine Charakterisierung anhand von NMR-Spektren nicht möglich. Da die Zielverbindung jedoch zweifelsfrei mittels LC-MS-Analyse identifiziert werden konnte wurde auf eine weitere Charakterisierung verzichtet. Auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse, kann nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden. **214** wurde direkt in der folgenden *N*-Cbz-Entschützung umgesetzt.

Ausbeute (214): 15.6 mg (~ 13 μ mol, ~ 75%) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.42$ (PE:EtOAc 50:50).

MS (ESI⁺): $m/z = 1221.7$ [M+H]⁺.

7.2.12.10 Synthese der glycosylierten L-Leucin-propyl-Nucleosyl-Aminosäure 215



215

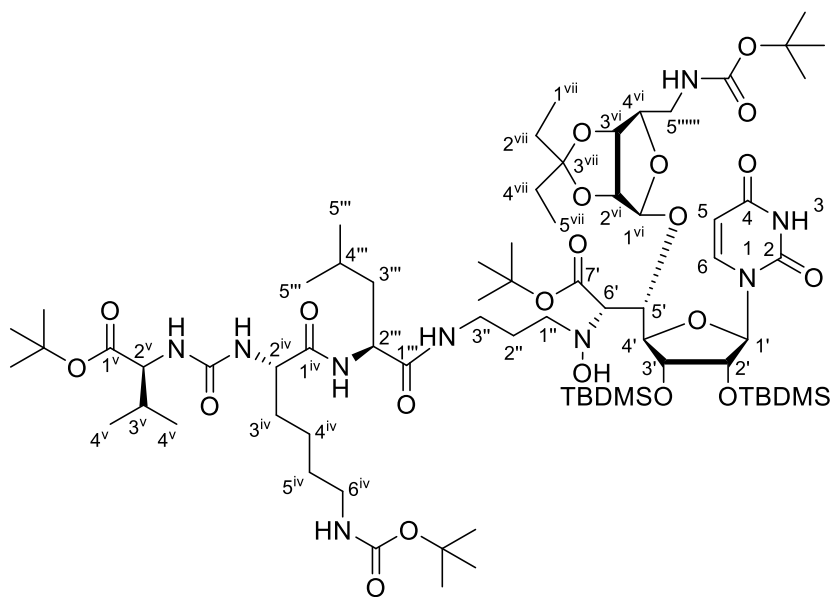
Eine Lösung der glycosylierten *N*-Cbz-geschützten L-Leucin-propyl-Nucleosyl-Aminosäure **214** (12.2 mg, ~ 10 μ mol) in abs. *iso*-Propanol (1.5 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (9.40 μ L, 101 μ mol) versetzt. Es wurde Palladium Black (10.0 mg, 94.0 μ mol) hinzugegeben und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde erneut mit 1,4-Cyclohexadien (9.40 μ L, 101 μ mol) und Palladium Black (10.0 mg, 94.0 μ mol) versetzt und weitere 45 min bei Raumtemperatur gerührt bevor erneut mit 1,4-Cyclohexadien (9.40 μ L, 101 μ mol) und Palladium Black (10.0 mg, 94.0 μ mol) versetzt und weitere 1 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter filtriert und dieser mit *iso*-Propanol (3 x 5 mL) gewaschen. Die Zielverbindung wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten. Aufgrund von Rotamerenbildung war eine

Charakterisierung anhand von NMR-Spektren nicht möglich. Da die Zielverbindung jedoch zweifelsfrei mittels LC-MS-Analyse identifiziert werden konnte wurde auf eine weitere Charakterisierung verzichtet. Auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse, kann nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden. **215** wurde direkt in der folgenden Peptidkupplung umgesetzt.

Ausbeute (215): 10.9 mg (~ 10 μ mol, \sim quant.) eines farblosen Feststoffes.

MS (ESI⁺): $m/z = 1087.6$ $[M+H]^+$.

7.2.12.11 Synthese des vollständig geschützten aminoribosylierten (5'S,6'S)-Murraymycin-Analogons **216**



216

Eine Lösung von *O*-tert-Butyl-L-valin-*N*-(C=O)-*N*-(*N*^ε-Boc)-L-lysin **85** (4.80 mg, 10.7 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (1.5 mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (1.50 mg, 10.7 μ mol), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (5.6 mg, 10.7 μ mol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (3.65 μ L, 21.5 μ mol) versetzt, 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde langsam eine Lösung der glycosylierten L-Leucin-propyl-Nucleosyl-Aminosäure **215** (11.5 mg, ~ 10 μ mol) in abs. Tetrahydrofuran (1.5 mL) hinzuge tropft, 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (14 g, 2.0 x 12 cm, DCM:MeOH 97:3)

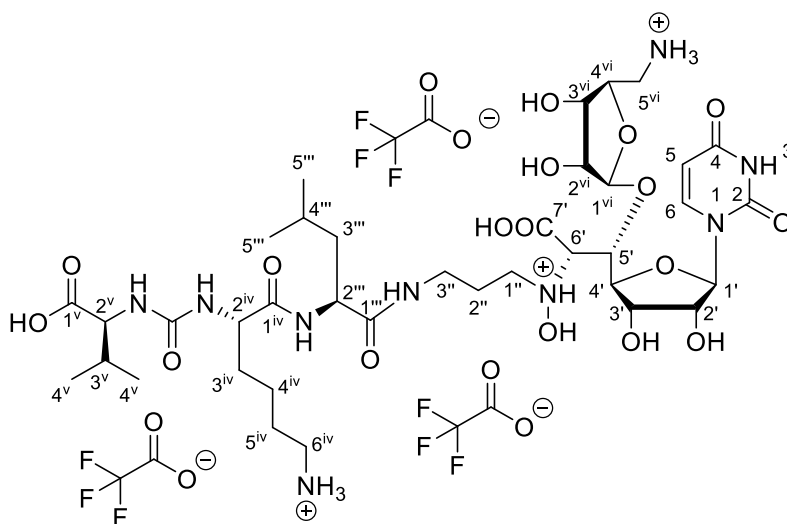
erhalten. Aufgrund der Komplexität der NMR-Spektren wurde Verbindung **216** lediglich per LC-MS-Analyse identifiziert, weshalb auf Basis einer hinreichenden Reinheit durch säulenchromatographische Reinigung, belegt durch das UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC-MS-Analyse, nur eine ungefähre Ausbeute angegeben werden kann. **216** wurde direkt in der folgenden globalen sauren Entschützung umgesetzt.

Ausbeute (216): 13.2 mg (~ 9 μ mol, $\sim 80\%$) eines farblosen Feststoffes.

DC: $R_f = 0.32$ (DCM:MeOH 95:5).

MS (ESI^+): $m/z = 1514.9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.12.12 Synthese des aminoribosylierten (5'S,6'S)-Muraymycin-Analogons **213**



213

Die nachfolgende Reaktion wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Das vollständig geschützte aminoribosylierte (5'S,6'S)-Muraymycin-Analogon **216** (13.2 mg, ~ 9 μ mol) wurde mit auf 0 °C gekühlter Trifluoressigsäure (2.0 mL, 80% in Wasser) versetzt und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (30 mL) verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung wurde durch Reinigung mittels semipräparativer HPLC (s.u.) erhalten.

Ausbeute (213): 4.60 mg (3.73 μ mol, 26% über 4 Stufen von **211**) eines farblosen Feststoffes.

HPLC (analytisch): $t_R = 6.6$ min (Methode QC_grad_pos_acid_2000, Injektionsvolumen: 20 μ L (c \sim 1 mg/mL, in H₂O)).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 22.6$ min (Methode DWP392, Injektionskonzentration: 13 mg in H₂O:MeCN 95:5 (0.8 mL)).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 0.72$ (d, $J = 5.8$ Hz, 3 H, 5'''-H_a), 0.82 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 5'''-H_b), 0.82 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 4^v-H_a), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 4^v-H_b), 1.26-1.41 (m, 2 H, 4^{iv}-H), 1.44-1.54 (m, 2 H, 3'''-H_a, 4'''-H), 1.54-1.64 (m, 4 H, 3'''-H_b, 3^{iv}-H_a, 5^{iv}-H), 1.65-1.74 (m, 1 H, 3^{iv}-H_b), 1.81 (dddd, $J = 7.3$ Hz, $J = 7.3$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 2 H, 2''-H), 2.06 (dqq, $J = 6.9$ Hz, $J = 6.8$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 3^v-H), 2.89 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2 H, 6^{iv}-H), 3.00 (ddd, $J = 14.2$ Hz, $J = 7.3$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 3.15 (m, 3 H, 1''-H_b, 3''-H_a, 5^{vi}-H_a), 3.20-3.27 (m, 1 H, 3''-H_b), 3.29 (dd, $J = 13.3$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1 H, 5^{vi}-H_b), 3.96 (d, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.98 (d, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 2^v-H), 4.03 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1 H, 2^{iv}-H), 4.07 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 2^{vi}-H), 4.08-4.15 (m, 2 H, 3^{vi}-H, 4^{vi}-H), 4.15-4.21 (m, 2 H, 3'-H, 2'''-H), 4.27-4.32 (m, 2 H, 2'-H, 4'-H), 4.43 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1 H, 5'-H), 5.17 (s, 1 H, 1^{vi}-H), 5.68 (d, $J = 3.2$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (126 MHz, D₂O): $\delta = 16.89$ (C_a-4^v), 18.46 (C_b-4^v), 20.67 (C_a-5'''), 21.97 (C-4^{iv}), 22.01 (C_b-5'''), 24.33 (C-4'''), 25.08 (C-2''), 26.20 (C-5^{iv}), 29.92 (C-3^v), 30.73 (C-3^{iv}), 36.81 (C-3''), 39.16 (C-6^{iv}), 39.54 (C-3'''), 41.86 (C-5^{vi}), 52.52 (C-2'''), 54.00 (C-2^{iv}), 56.24 (C-1''), 58.93 (C-2^v), 69.72 (C-3'), 70.85 (C-6'), 71.65 (C-3^{vi}), 73.19 (C-2'), 74.64 (C-2^{vi}), 77.50 (C-5'), 78.51 (C-4^{vi}), 82.91 (C-4'), 90.92 (C-1'), 101.81 (C-5), 109.25 (C-1^{vi}), 116.29 (q, $^1J_{CF} = 297.7$ Hz, F₃C $\underline{\underline{C}}$ OO), 142.20 (C-6), 151.34 (C-2), 159.44 (NC(=O)N), 162.98 (q, $^2J_{CF} = 35.5$ Hz, F₃C $\underline{\underline{C}}$ OO), 166.24 (C-4), 171.76 (C-7'), 174.45 (C-1'''), 175.33 (C-1^{iv}), 176.91 (C-1^v).

¹⁹F-NMR (282 MHz, D₂O): $\delta = -75.60$ (s, CF₃).

Drehwert: $[\alpha]_{20}^D = +20.6$ (c = 0.2, H₂O).

Schmelzpunkt: $T_m = 182$ °C.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3291, 3076, 2961, 1668, 1553, 1200, 1133, 800, 722, 563$.

UV/VIS (MeCN): $\lambda_{\max} = 263$.

MS (ESI⁺): $m/z = 906.4$ [M+H]⁺.

C₃₇H₆₃N₉O₁₇ (905.96)

ber.: 453.7244 [M+2H]⁺,

C₃₇H₆₃N₉O₁₇ · 3 CF₃COOH (1248.03)

gef.: 453.7244 (ESI⁺-HRMS).

7.3 Biologische Arbeiten

7.3.1 Fluoreszenz-basierter MraY-Assay

Die Messungen wurden in der Arbeitsgruppe Ducho von S. Koppermann und J. Ludwig durchgeführt. Basierend auf der Methode von Bugg und Mitarbeitern^[68,69] wurde die Abnahme der Fluoreszenz-Intensität über die Zeit bei Wellenlängen von $\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 520 \text{ nm}$ (BMG Labtech POLARstar Omega, 384-Well-Plate-Format) bestimmt. Um die MraY-katalysierte Reaktion zu starten, wurde eine Membranpräparation von MraY aus *S. aureus* (1 μL) zu einer Mischung aus Undecaprenylphosphat (50 μM) und dansyliertem Park's Nucleotid^[108] (synthetisch, 7.5 μM) in Puffer (100 mM Tris-HCl Puffer pH 7.5, 200 mM KCl, 10 mM MgCl_2 , 0.1% Triton X-100, 20 μL gesamt) gegeben. Wurde inhibitorische *in vitro*-Aktivität gegen MraY beobachtet, wurden alle Konzentrationen als Triplikate gemessen und über diese ein sigmoidaler Fit gelegt um die IC_{50} -Werte inklusive des entsprechenden Fehlers zu erhalten (Arbeitsvorschrift adaptiert von Wohnig et. al.^[108]).

7.3.2 Antibakterielle Aktivitätsmessungen

Die Messungen wurden in der Arbeitsgruppe Ducho von S. Koppermann und J. Ludwig durchgeführt. In Doppelbestimmungen wurden Lösungen des potentiellen antibakteriellen Wirkstoffes (4 μL) in DMSO sowie DMSO als Kontrolle zu 196 μL LB-Medium gegeben. Nach Durchmischung wurden 100 μL der Mischungen unter sterilen Bedingungen zu 100 μL LB-Medium auf eine 96-Well-Platte gegeben. Die Verdünnung wurde wiederholt, sodass sich unterschiedliche Konzentrationen des Wirkstoffes im LB-Medium auf der Platte ergaben. Eine entsprechende Bakterienkultur wurde bei 37 °C für 2 h unter Schütteln (185 rpm) inkubiert und anschließend mit LB-Medium verdünnt (1:10). Die optische Dichte OD_{600} wurde gemessen (BMG Labtech POLARstar Omega, 384-Well-Plate-Format) und es wurde bis zu einer $\text{OD}_{600} = 0.06$ verdünnt. 100 μL der Bakterien-Präparation wurden zu den Inhibitor-Mischungen auf der 96-Well-Platte gegeben und zu Beginn der Messung und nach einer Inkubation von 16 h bei 37 °C (50 rpm) die optische Dichte bestimmt (BMG Labtech POLARstar Omega, 384-Well-Plate-Format). Wurde antibakterielle Aktivität beobachtet, wurden die Messungen mindestens zweifach wiederholt, der schlechteste und der beste Wert verworfen und die übrigen Werte zu den entsprechend angegebenen Minimalen Inhibitorischen Konzentrationen (MIC) gemittelt (Arbeitsvorschrift adaptiert von Spork et al.^[132]).

7.3.3 Stabilitätsassays in biologischen Medien

Die Messungen wurden in der Arbeitsgruppe Ducho von S. Boettcher und M. Jankowski durchgeführt. *In vitro*-Stabilitätsassays wurden in Puffer, in humanem Plasma (*Biotrend*), in humanem Serum (*Sigma Aldrich*), in LB-Nährmedium (*Sigma Aldrich*), in Zelllysat (*E. coli* DH5 α) und mit Schweineleberesterase (PLE, *Sigma Aldrich*) in Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Mischungen wurden bei 37 °C im Wasserbad inkubiert und die Stabilität der zu untersuchenden Substanzen zu unterschiedlichen Zeitpunkten bestimmt. Dabei kamen LC-UV-(Accela UHPLC mit einem TSQ Quantum Access Max und einem PDA Detektor (*Thermo Scientific*)) sowie LC-MS/MS-Methoden (Dionex UltiMate 3000 RS UHPLC mit einem TF Q-Exactive Plus (*Thermo Fisher Scientific*)) zum Einsatz. Die Messungen wurden durch die Zugabe entsprechender Stopplösungen (doppeltes Volumen der Inkubationsmischung) mit internem Standard zum jeweiligen Messzeitpunkt abgebrochen. Es wurde gemischt, dann zentrifugiert (17000 x g) und der Überstand untersucht (Arbeitsvorschrift adaptiert von Spork et al.^[132]).

Assay zur Pufferstabilität: Es wurde Phosphatpuffer verwendet (50 mM, 547 mg Na₂HPO₄, 155 mg KH₂PO₄, 100 mL H₂O, pH 7.3). Die Messzeitpunkte waren 0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h. Wurde mittels LC-UV analysiert, wurden Endkonzentrationen der zu untersuchenden Substanzen von 750 μ M eingestellt (3 μ L Arbeitsstammlösung (7.5 mM in H₂O), 27 μ L Puffer). Als interner Standard in der Stopplösung wurde Phenazon genutzt (1 mM in Methanol). Bei LC-MS/MS-Analysen waren die Endkonzentrationen um den Faktor 10 kleiner (75 μ M (3 μ L Arbeitsstammlösung (750 μ M in H₂O), 27 μ L Puffer)). Zudem wurde bei LC-MS/MS-Analyse für die Quantifizierung eine Kalibriergerade mit einer entsprechenden Verdünnungsreihe gemessen. Als interner Standard wurde mit Diphenhydramin in der Stopplösung (1 μ M in Acetonitril) gearbeitet (nach M. Jankowski, unveröffentlicht).

Assay zur Plasmastabilität: Es wurde humanes Plasma oder humanes Plasma in H₂O (1:10 verdünnt) genutzt. Die Messzeitpunkte waren 0 min, 5 min, 15 min, 60 min und 150 min. Analysiert wurde mit LC-MS/MS. Die sonstige Vorgehensweise und die entsprechenden Konzentrationen waren analog zum Pufferstabilitätsassay (nach M. Jankowski, unveröffentlicht).

Assay zur Serumstabilität: Es wurde humanes Serum in H₂O (1:10 verdünnt) genutzt. Die Messzeitpunkte waren 0 min, 5 min, 15 min, 60 min und 150 min. Analysiert wurde mit

LC-MS/MS. Die sonstige Vorgehensweise und die entsprechenden Konzentrationen waren analog zum Pufferstabilitätsassay (nach M. Jankowski, unveröffentlicht).

Assay zur Stabilität im LB-Nährmedium: Die Messzeitpunkte waren 30 min und 150 min. Die Endkonzentrationen der zu untersuchenden Substanzen betrugen 1 μM (3 μL Arbeitsstammlösung (30 μM in H_2O), 27 μL LB-Nährmedium). Analysiert wurde mit LC-MS/MS. Es wurde ohne internen Standard in der Stopplösung (Acetonitril) gearbeitet (nach M. Jankowski, unveröffentlicht).

*Assay zur Stabilität im Zelllysate (*E. coli* DH5 α):* Die Messzeitpunkte waren 30 min und 150 min. Die Endkonzentrationen der zu untersuchenden Substanzen betrugen 1 μM (3 μL Arbeitsstammlösung (30 μM in H_2O), 27 μL Zelllysate (*E. coli* DH5 α)). Analysiert wurde mit LC-MS/MS. Es wurde ohne internen Standard in der Stopplösung (Acetonitril) gearbeitet (nach M. Jankowski, unveröffentlicht).

Assay mit Schweineleberesterase: Es wurde Schweineleberesterase in Puffer (0.032 mM Tris Puffer, 387 mg Tris, 143 mg MgCl_2 , 100 mL H_2O , pH 7.3) verwendet (1.12 mg (1 mg = 18 U) in 814 μL Tris-Puffer, finale Konzentration 1 U/ 40 μL). 1U entspricht 1 μmol Substratumsatz von Ethylbutyrat in der Minute. Die Messzeitpunkte waren 30 min und 150 min. Die Endkonzentrationen der zu untersuchenden Substanzen betrugen 1 μM (3 μL Arbeitsstammlösung (30 μM in H_2O), 27 μL Schweineleberesterase in Puffer). Analysiert wurde mit LC-MS/MS. Es wurde ohne internen Standard in der Stopplösung gearbeitet (nach M. Jankowski, unveröffentlicht).

8. Literaturverzeichnis

- [1] A. Fleming; Penicillin; *Nobel Lecture* **1945**.
- [2] S. A. Waksman; What is an antibiotic or antibiotic substance?; *Mycologia* **1947**, 39, 565-569.
- [3] S. A. Waksman; History of the Word 'Antibiotic'; *J. Hist. Med. Allied Sci.* **1973**, 28, 284-286.
- [4] *Römpp-Lexikon Naturstoffe* (Hrsg.: W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1997**.
- [5] P. Vuillemin; Antibiose et symbiose; *Assoc. Franç. Pour l'Avanc. Des Sciences* **1889**, 2, 525-542.
- [6] *RÖMPP Online*, Version 3.2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2008**.
- [7] *Der Brockhaus Naturwissenschaft und Technik*, F. A. Brockhaus, Mannheim, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, **2003**.
- [8] A. Fleming; On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*; *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, 10, 226-236.
- [9] E. Chain, H. W. Florey, A. D. Gardner, N. G. Heatley, M. A. Jennings, J. Orr-Ewing, A. G. Sanders; Penicillin as a chemotherapeutic agent; *The Lancet* **1940**, 236, 226-228.
- [10] C. Walsh; Where will new antibiotics come from?; *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, 1, 65-70.
- [11] F. von Nussbaum, M. Brands, B. Hinzen, S. Weigand, D. Häbich; Antibakterielle Naturstoffe in der medizinischen Chemie - Exodus oder Renaissance?; *Angew. Chem.* **2006**, 118, 5194-5254. Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry - Exodus or Revival?; *Angew. Chem., Inte Ed.* **2006**, 45, 5072-5129.
- [12] V. M. D'Costa, C. E. King, L. Kalan, M. Morar, W. W. L. Sung, C. Schwarz, D. Froese, G. Zazula, F. Calmels, R. Debruyne, G. B. Golding, H. Poinar, G. D. Wright; Antibiotic resistance is ancient; *Nature* **2011**, 477, 457-461.
- [13] R. Hakenbeck, T. Grebe, D. Zähler, J. B. Stock; β -Lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*: penicillin-binding proteins and non-penicillin-binding proteins; *Mol. Microbiol.* **1999**, 33, 673-678.
- [14] D. J. Payne; Desperately Seeking New Antibiotics; *Science* **2008**, 321, 1644-1645.
- [15] A. Coates, Y. Hu, R. Bax, C. Page; The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs; *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, 1, 895-910.

- [16] G. Taubes; The bacteria fight back; *Science* **2008**, 321, 356-361.
- [17] C. Simon; Geben wir den Kampf gegen „Superkeime“ auf? **2015**, verfügbar unter <https://www.welt.de/gesundheit/article147592979/Geben-wir-den-Kampf-gegen-Superkeime-auf.html>, (Zugriff am 30.10.2016).
- [18] A. E. Clatworthy, E. Pierson, D. T. Hung; Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy; *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 541-548.
- [19] G. D. Wright; Aminoglycoside-modifying enzymes; *Curr. Opin. Microbiol.* **1999**, 2, 499-503.
- [20] P. A. Lambert; Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria; *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* **2002**, 92, 46S-54S.
- [21] X. Z. Li, H. Nikaido; Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: An Update; *Drugs* **2009**, 69, 1555-1623.
- [22] J. Davies; Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes; *Science* **1994**, 264, 1064-1073.
- [23] W. Witte; Medical Consequences of Antibiotic Use in Agriculture; *Science* **1998**, 279, 996-997.
- [24] R. J. Williams, D. L. Heymann; Containment of Antibiotic Resistance; *Science* **1998**, 279, 1153-1154.
- [25] E. G. Pamer; Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens; *Science* **2016**, 352, 535-538.
- [26] M. J. Bonten, R. Willems, R. A. Weinstein; Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from?; *Lancet Infect. Dis.* **2001**, 1, 314-325.
- [27] M. Otto; Community-associated MRSA: What makes them special?; *Int. J. Med. Microbiol.* **2013**, 303, 324-330.
- [28] A. P. Johnson, A. Pearson, G. Duckworth; Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK; *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, 56, 455-462.
- [29] S. Loewenberg; India reports cases of totally drug-resistant tuberculosis; *The Lancet* **2012**, 379, 205.
- [30] M. Fox; Drug-Resistant Superbugs Are a ‘Fundamental Threat’, WHO Says **2016**, verfügbar unter <http://www.nbcnews.com/health/health-news/who-labels-drug-resistant-superbugs-fundamental-threat-humans-n651981>, (Zugriff am 30.10.2016).
- [31] N. Gilbert; Rules tighten on use of antibiotics on farms; *Nature* **2012**, 481, 125.

- [32] K. Bush, P. Courvalin, G. Dantas, J. Davies, B. Eisenstein, P. Huovinen, G. A. Jacoby, R. Kishony, B. N. Kreiswirth, E. Kutter, S. A. Lerner, S. Levy, K. Lewis, O. Lomovskaya, J. H. Miller, S. Mobashery, L. J. V. Piddock, S. Projan, C. M. Thomas, A. Tomasz, P. M. Tulkens, T. R. Walsh, J. D. Watson, J. Witkowski, W. Witte, G. Wright, P. Yeh, H. I. Zgurskaya; Tackling antibiotic resistance; *Nat. Rev. Microbiol.* **2011**, 9, 894-896.
- [33] R. Chait, K. Vetsigian, R. Kishony; What counters antibiotic resistance in nature?; *Nat. Chem. Biol.* **2012**, 8, 2-5.
- [34] T. D. H. Bugg, D. Braddick, C. G. Dowson, D. I. Roper; Bacterial cell wall assembly: still an attractive antibacterial target; *Trends Biotechnol.* **2011**, 29, 167-173.
- [35] K.-I. Kimura, T. D. H. Bugg; Recent advances in antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall biosynthesis; *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, 252-273.
- [36] *The Ribosome: Structure, Function, Antibiotics, and Cellular Interactions* (Hrsg.: A. Garrett, S. R. Douthwaite, A. Liljas, A. T. Matheson, P. B. Moore, H. F. Noller), ASM Press, Washington, **2000**.
- [37] A. P. Carter, W. M. Clemons, D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan; Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics; *Nature* **2000**, 407, 340-348.
- [38] F. Schlünzen, R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Franceschi; Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria; *Nature* **2001**, 413, 814-821.
- [39] J. L. Hansen, J. A. Ippolito, N. Ban, P. Nissen, P. B. Moore, T. A. Steitz; The Structures of Four Macrolide Antibiotics Bound to the Large Ribosomal Subunit; *Mol. Cell* **2002**, 10, 117-128.
- [40] M. S. Butler, A. D. Buss; Natural products - The future scaffolds for novel antibiotics?; *Biochem. Pharmacol.* **2006**, 71, 919-929.
- [41] M. T. Madigan, J. M. Martinko in *Brock Mikrobiologie*, 11. überarbeitete Ausgabe (Hrsg.: T. D. Brock, M. Thomm) Pearson Studium, München, **2006**.
- [42] M. Winn, R. J. M. Goss, K.-I. Kimura, T. D. H. Bugg; Antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall assembly: Recent advances in structure-function studies and nucleoside biosynthesis; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 279-304.
- [43] S. Ichikawa, M. Yamaguchi, A. Matsuda; Antibacterial Nucleoside Natural Products Inhibiting Phospho-MurNAc-Pentapeptide Translocase; Chemistry and Structure-Activity Relationship; *Curr. Med. Chem.* **2015**, 22, 3951-3979.
- [44] A. Takatsuki, K. Arima, G. Tamura; Tunicamycin, a new antibiotic. I. Isolation and characterization of tunicamycin; *J. Antibiot.* **1971**, 24, 215-223.

- [45] A. Takatsuki, G. Tamura; Tunicamycin, a new antibiotic. II. Some biological properties of the antiviral activity of tunicamycin; *J. Antibiot.* **1971**, 24, 224-231.
- [46] A. Takatsuki, G. Tamura; Effect of tunicamycin on the synthesis of macromolecules in cultures of chick embryo fibroblasts infected with Newcastle disease virus; *J. Antibiot.* **1971**, 24, 785-794.
- [47] K. Eckardt, H. Thrum, G. Bradler, E. Tonew, M. Tonew; Streptovirudins, new antibiotics with antibacterial and antiviral activity. II. Isolation, chemical characterization and biological activity of streptovirudins A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1, and D2; *J. Antibiot.* **1975**, 28, 274-279.
- [48] H. Thrum, K. Eckardt, G. Bradler, R. Fügner, E. Tonew, M. Tonew; Streptovirudins, new antibiotics with antibacterial and antiviral activity. I. Culture taxonomy, fermentation and production of streptovirudin complex; *J. Antibiot.* **1975**, 28, 514-521.
- [49] K. Eckardt, W. Ihn, D. Tresselt, D. Krebs; The chemical structures of streptovirudins; *J. Antibiot.* **1981**, 34, 1631-1632.
- [50] P. Vogel, D. Petterson, P. Berry, J. Frahn, N. Anderton, P. Cockrum, J. Edgar, M. Jago, G. Lanigan, A. Payne, C. C. J. Culvenor.; Isolation of a group of glycolipid toxins from seeheads of annual ryegrass *Lolium rigidum* gaud.) infected by *Corynebacterium rathayi*; *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **1981**, 59, 455-467.
- [51] M. Inukai, F. Isono, S. Takahashi, R. Enokita, Y. Sakaida, T. Haneishi; Mureidomycins A-D, novel peptidynucleoside antibiotics with spheroplast forming activity. I. Taxonomy, fermentation, isolation and physico-chemical properties.; *J. Antibiot.* **1989**, 42, 662-666.
- [52] M. Inukai, F. Isono, S. Takahashi, T. Haneishi; Mureidomycins A-D, novel peptidynucleoside antibiotics with spheroplast forming activity. II. Structural Elucidation; *J. Antibiot.* **1989**, 42, 667-673.
- [53] M. Inukai, F. Isono, S. Takahashi, T. Haneishi; Mureidomycins A-D, novel peptidynucleoside antibiotics with spheroplast forming activity. III. Biological Properties; *J. Antibiot.* **1989**, 42, 674-679.
- [54] J. P. Karwowski, M. Jackson, R. J. Theriault, R. H. Chen, G. J. Barlow, M. L. Maus; Pacidamycins, a novel series of antibiotics with anti-*Pseudomonas aeruginosa* activity. I. Taxonomy of the producing organism and fermentation.; *J. Antibiot.* **1989**, 42, 506-511.
- [55] R. H. Chen, A. M. Buko, D. N. Whittern, J. B. Mcalpine; Pacidamycins, a novel series of antibiotics with anti-*Pseudomonas aeruginosa* activity. II. Isolation and structural elucidation.; *J. Antibiot.* **1989**, 42, 512-520.

- [56] P. B. Fernandes, R. N. Swanson, D. J. Hardy, C. W. Hanson, L. Coen, R. R. Rasmussen, R. H. Chen; Pacidamycins, a novel series of antibiotics with anti-*Pseudomonas aeruginosa* activity. III. Microbiologic profile.; *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 521-526.
- [57] S. Chatterjee, S. R. Nadkarni, E. K. Vijayakumar, M. V. Patel, B. N. Ganguli, H. W. Fehllhaber, L. Vertesy; Napsamycins, new *Pseudomonas* active antibiotics of the mureidomycin family from *Streptomyces* sp. HIL Y-82,11372; *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 595-598.
- [58] Y. Xie, R. Chen, S. Si, C. Sun, H. Xu; A New Nucleosidyl-peptide Antibiotic, Sansanmycin; *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 158-161.
- [59] Y. Xie, H. Xu, S. Si, C. Sun, R. Chen; Sansanmycins B and C, New Components of Sansanmycins; *J. Antibiot.* **2008**, *61*, 237-240.
- [60] K. Isono, M. Uramoto, H. Kusakabe, K. Kimura, K. Izaki, C. C. Nelson, J. A. McCloskey; Liposidomycins: Novel nucleoside antibiotics which inhibit bacterial peptidoglycan synthesis.; *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1617-1621.
- [61] M. Igarashi, N. Nakagawa, N. Doi, S. Hattori, H. Naganawa, M. Hamada; Caprazamycin B, a Novel Anti-tuberculosis Antibiotic, from *Streptomyces* sp.; *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 580-583.
- [62] M. Igarashi, Y. Takahashi, T. Shitara, H. Nakamura, H. Naganawa, T. Miyake, Y. Akamatsu; Caprazamycins, Novel Lipo-nucleoside Antibiotics, from *Streptomyces* sp.; *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 327-337.
- [63] S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Total synthesis of (+)-FR-900493 and establishment of its absolute stereochemistry; *Tetrahedron* **2007**, *63*, 2798-2804.
- [64] K. Ochi, M. Ezaki, M. Iwami, T. Komori, M. Kohsaka; FR-900493 Substance, a Process for Its Production and a Pharmaceutical Composition Containing the Same. U.S. Patent US4950605 A, Aug 21, **1990**.
- [65] L. A. McDonald, L. R. Barbieri, G. T. Carter, E. Lenoy, J. Lotvin, P. J. Petersen, M. M. Siegel, G. Singh, R. T. Williamson; Structures of the Muraymycins, Novel Peptidoglycan Biosynthesis Inhibitors; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10260-10261.
- [66] H. Seto, N. Otake, S. Sato, H. Yamaguchi, K. Takada, M. Itoh, H. S. M. Lu, J. Clardy; The structure of a new nucleoside antibiotic, capuramycin; *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2343-2346.
- [67] H. Yamaguchi, S. Sato, S. Yoshida, K. Takada, M. Itoh, H. Seto, N. Otake; Capuramycin, a new nucleoside antibiotic. Taxonomy, fermentation, isolation and characterization.; *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1047-1053.

- [68] P. E. Brandish, K. Kimura, M. Inukai, R. Southgate, J. T. Lonsdale, T. D. Bugg; Modes of action of tunicamycin, liposidomycin B, and mureidomycin A: inhibition of phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide translocase from *Escherichia coli*; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, 40, 1640-1644.
- [69] P. E. Brandish, M. K. Burnham, J. T. Lonsdale, R. Southgate, M. Inukai, T. D. Bugg; Slow Binding Inhibition of Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide-translocase (*Escherichia coli*) by Mureidomycin A; *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 7609-7614.
- [70] Y. Muramatsu, M. M. Ishii, M. Inukai; Studies on Novel Bacterial Translocase I Inhibitors, A-500359s. II. Biological Activities of A-500359 A, C, D and G.; *J. Antibiot.* **2003**, 56, 253-258.
- [71] P. Singleton; *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*, 3rd ed., John Wiley & Sons, Chichester, **1995**.
- [72] H. C. Gram; Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten; *Fortschr. Med.* **1884**, 2, 185-189.
- [73] J. van Heijenoort; Recent advances in the formation of the bacterial peptidoglycan monomer unit; *Nat. Prod. Rep.* **2001**, 18, 503-519.
- [74] M. J. Osborn; Structure and Biosynthesis of the Bacterial Cell Wall; *Annu. Rev. Biochem.* **1969**, 38, 501-538.
- [75] H. Barreteau, A. Kovač, A. Boniface, M. Sova, S. Gobec, D. Blanot; Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, 32, 168-207.
- [76] A. Bouhss, A. E. Trunkfield, T. D. H. Bugg, D. Mengin-Lecreulx; The biosynthesis of peptidoglycan lipid-linked intermediates; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, 32, 208-233.
- [77] A. Gautam, R. Vyas, R. Tewari; Peptidoglycan biosynthesis machinery: A rich source of drug targets; *Crit. Rev. Biotechnol.* **2011**, 31, 295-336.
- [78] A. J. F. Egan, W. Vollmer; The physiology of bacterial cell division; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2013**, 1277, 8-28.
- [79] D. Wiegmann, S. Koppermann, M. Wirth, G. Niro, K. Leyrer, C. Ducho; Muraymycin nucleoside-peptide antibiotics: uridine-derived natural products as lead structures for the development of novel antibacterial agents; *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.
- [80] B. Badet, P. Vermoote, P. Y. Haumont, F. Lederer, F. Le Goffic; Glucosamine synthetase from *Escherichia coli*: purification, properties, and glutamine-utilizing site location; *Biochemistry* **1987**, 26, 1940-1948.

- [81] D. Mengin-Lecreulx, J. van Heijenoort; Characterization of the essential Gene *glmM* Encoding Phosphoglucosamine Mutase in *Escherichia coli*; *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 32-39.
- [82] A. M. Gehring, W. J. Lees, D. J. Mindiola, C. T. Walsh, E. D. Brown; Acetyltransfer Precedes Uridyltransfer in the Formation of UDP-*N*-acetylglucosamine in Separable Active Sites of the Bifunctional GlmU Protein of *Escherichia coli*; *Biochemistry* **1996**, 35, 579-585.
- [83] T. Skarzynski, D. H. Kim, W. J. Lees, C. T. Walsh, K. Duncan; Stereochemical Course of Enzymatic Enolpyruvyl Transfer and Catalytic Conformation of the Active Site Revealed by the Crystal Structure of the Fluorinated Analogue of the Reaction Tetrahedral Intermediate Bound to the Active Site of the C115A Mutant of MurA; *Biochemistry* **1998**, 37, 2572-2577.
- [84] T. E. Benson, J. L. Marquardt, A. C. Marquardt, F. A. Etzkorn, C. T. Walsh; Overexpression, purification, and mechanistic study of UDP-*N*-acetylenolpyruvyl-glucosamine reductase; *Biochemistry* **1993**, 32, 2024-2030.
- [85] H. Jin, J. J. Emanuele, Jr., R. Fairman, J. G. Robertson, M. E. Hail, H.-T. Ho, P. J. Falk, J. J. Villafranca; Structural Studies of *Escherichia coli* UDP-*N*-Acetylmuramate: L-Alanine Ligase; *Biochemistry* **1996**, 35, 1423-1431.
- [86] C. Michaud, D. Blanot, B. Flouret, J. Heijenoort; Partial purification and specificity studies of the D-glutamate-adding and D-alanyl-D-alanine-adding enzymes from *Escherichia coli* K12; *Eur. J. Biochem.* **1987**, 166, 631-637.
- [87] E. Gordon, B. Flouret, L. Chantalat, J. van Heijenoort, D. Mengin-Lecreulx, O. Dideberg; Crystal Structure of UDP-*N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-glutamate: *meso*-Diaminopimelate Ligase from *Escherichia Coli*; *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 10999-11006.
- [88] Y. Yan, S. Munshi, B. Leiting, M. S. Anderson, J. Chrzas, Z. Chen; Crystal structure of *Escherichia coli* UDPMurNAc-tripeptide D-alanyl-D-alanine-adding enzyme (MurF) at 2.3 Å resolution; *J. Mol. Biol.* **2000**, 304, 435-445.
- [89] S. Ha, D. Walker, Y. Shi, S. Walker; The 1.9 Å crystal structure of *Escherichia coli* MurG, a membrane-associated glycosyltransferase involved in peptidoglycan biosynthesis; *Protein Sci.* **2000**, 9, 1045-1052.
- [90] W. G. Struve, F. C. Neuhaus; Evidence for an initial acceptor of UDP-*N*Ac-muramyl-pentapeptide in the synthesis of bacterial mucopeptide; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1965**, 18, 6-12.
- [91] J. S. Anderson, M. Matsushashi, M. A. Haskin, J. L. Strominger; Lipid-phosphoacetylmuramyl-pentapeptide and lipid-phosphodisaccharide-pentapeptide:

- presumed membrane transport intermediates in cell wall synthesis; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1965**, 53, 881-889.
- [92] M. Ikeda, M. Wachi, H. K. Jung, F. Ishino, M. Matsuhashi; The *Escherichia coli mraY* gene encoding UDP-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptide: undecaprenyl-phosphate phospho-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptide transferase.; *J. Bacteriol.* **1991**, 173, 1021-1026.
- [93] D. S. Boyle, W. D. Donachie; *mraY* is an Essential Gene for Cell Growth in *Escherichia coli*; *J. Bacteriol.* **1998**, 180, 6429-6432.
- [94] A. A. Branstrom, S. Midha, C. B. Longley, K. Han, E. R. Baizman, H. R. Axelrod; Assay for Identification of Inhibitors for Bacterial *MraY* Translocase or *MurG* Transferase; *Anal. Biochem.* **2000**, 280, 315-319.
- [95] M. D. F. S. Barbosa, H. O. Ross, M. C. Hillman, R. P. Meade, M. G. Kurilla, D. L. Pompliano; A Multitarget Assay for Inhibitors of Membrane-Associated Steps of Peptidoglycan Biosynthesis; *Anal. Biochem.* **2002**, 306, 17-22.
- [96] J. A. Thanassi, S. L. Hartman-Neumann, T. J. Dougherty, B. A. Dougherty, M. J. Pucci; Identification of 113 conserved essential genes using a high-throughput gene disruption system in *Streptococcus pneumoniae*; *Nucleic Acids Res.* **2002**, 30, 3152-3162.
- [97] B. Lara, D. Mengin-Lecreulx, J. A. Ayala, J. van Heijenoort; Peptidoglycan precursor pools associated with *MraY* and *FtsW* deficiencies or antibiotic treatments; *FEMS Microbiol. Lett.* **2005**, 250, 195-200.
- [98] A. Bouhss, M. Crouvoisier, D. Blanot, D. Mengin-Lecreulx; Purification and Characterization of the Bacterial *MraY* Translocase Catalyzing the First Membrane Step of Peptidoglycan Biosynthesis; *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 29974-29980.
- [99] Y. Ma, D. Münch, T. Schneider, H.-G. Sahl, A. Bouhss, U. Ghoshdastider, J. Wang, V. Dötsch, X. Wang, F. Bernhard; Preparative Scale Cell-free Production and Quality Optimization of *MraY* Homologues in Different Expression Modes; *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 38844-38853.
- [100] M. G. Heydanek Jr, W. G. Struve, F. C. Neuhaus; On the Initial Stage in Peptidoglycan Synthesis. III. Kinetics and Uncoupling of Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide Translocase (Uridine 5'-Phosphate); *Biochemistry (Mosc.)* **1969**, 8, 1214-1221.
- [101] A. Bouhss, D. Mengin-Lecreulx, D. Le Beller, J. Van Heijenoort; Topological analysis of the *MraY* protein catalysing the first membrane step of peptidoglycan synthesis; *Mol. Microbiol.* **1999**, 34, 576-585.

- [102] A. J. Lloyd, P. E. Brandish, A. M. Gilbey, T. D. H. Bugg; Phospho-*N*-Acetyl-Muramyl-Pentapeptide Translocase from *Escherichia coli*: Catalytic Role of Conserved Aspartic Acid Residues; *J. Bacteriol.* **2004**, *186*, 1747-1757.
- [103] B. Al-Dabbagh, X. Henry, M. E. Ghachi, G. Auger, D. Blanot, C. Parquet, D. Mengin-Lecreulx, A. Bouhss; Active Site Mapping of MrdY, a Member of the Polyprenyl-phosphate *N*-Acetylhexosamine 1-Phosphate Transferase Superfamily, Catalyzing the First Membrane Step of Peptidoglycan Biosynthesis; *Biochemistry* **2008**, *47*, 8919-8928.
- [104] B. C. Chung, J. Zhao, R. A. Gillespie, D.-Y. Kwon, Z. Guan, J. Hong, P. Zhou, S.-Y. Lee; Crystal Structure of MrdY, an Essential Membrane Enzyme for Bacterial Cell Wall Synthesis; *Science* **2013**, *341*, 1012-1016.
- [105] B. C. Chung, E. H. Mashalidis, T. Tanino, M. Kim, A. Matsuda, J. Hong, S. Ichikawa, S.-Y. Lee; Structural insights into inhibition of lipid I production in bacterial cell wall synthesis; *Nature* **2016**, *533*, 557-560.
- [106] S. Koppermann, C. Ducho; Naturstoffe bei der Arbeit: strukturelle Einblicke in die Inhibition des bakteriellen Membranproteins MrdY; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 11896-11898. Natural Products at Work: Structural Insights into Inhibition of the Bacterial Membrane Protein MrdY; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 11722-11724;
- [107] J. M. Andrews; Determination of minimum inhibitory concentrations; *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48*, 5-16.
- [108] S. Wohnig, A. Spork, S. Koppermann, G. Mieskes, N. Gisch, R. Jahn, C. Ducho; Total Synthesis of Dansylated Park's Nucleotide for HighThroughput MrdY Assays; *Chem. Eur. J.* **2016**, early view (DOI: 10.1002/chem.201604279).
- [109] A. B. Shapiro, H. Jahić, N. Gao, L. Hajec, O. Rivin; A High-Throughput, Homogeneous, Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based Assay for Phospho-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptide Translocase (MrdY); *J. Biomol. Screening* **2012**, *17*, 662-672.
- [110] G. T. Carter, J. A. Lotvin, L. A. McDonald; (American Cyanid Company); Antibiotics aa-896; WO2002085310 A3, **2003**.
- [111] K. Mitachi, B. A. Aleiwi, C. M. Schneider, S. Siricilla, M. Kurosu; Stereocontrolled Total Synthesis of Muraymycin D1 Having a Dual Mode of Action against *Mycobacterium tuberculosis*; *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 12975-12980.
- [112] L. Cheng, W. Chen, L. Zhai, D. Xu, T. Huang, S. Lin, X. Zhou, Z. Deng; Identification of the genecluster involved in muraymycin biosynthesis from *Streptomyces* sp. NRRL 30471; *Mol BioSyst* **2011**, *7*, 920-927.

- [113] A. Lemke, M. Büschleb, C. Ducho; Concise synthesis of both diastereomers of 3-hydroxy-L-arginine; *Tetrahedron* **2010**, *66*, 208-214.
- [114] A. Lemke, C. Ducho; Synthesis of Deuterium-Labelled 3-Hydroxy-L-arginine: Comparative Studies on Different Protecting-Group Strategies; *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, *2016*, 87-98.
- [115] X. Chi, P. Pahari, K. Nonaka, S. G. Van Lanen; Biosynthetic Origin and Mechanism of Formation of the Aminoribosyl Moiety of Peptidyl Nucleoside Antibiotics; *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14452-14459.
- [116] S. Barnard-Britson, X. Chi, K. Nonaka, A. P. Spork, N. Tibrewal, A. Goswami, P. Pahari, C. Ducho, J. Rohr, S. G. Van Lanen; Amalgamation of Nucleosides and Amino Acids in Antibiotic Biosynthesis: Discovery of an L-Threonine:Uridine-5'-Aldehyde Transaldolase; *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18514-18517.
- [117] Y.-I. Lin, Z. Li, G. D. Francisco, L. A. McDonald, R. A. Davis, G. Singh, Y. Yang, T. S. Mansour; Muraymycins, novel peptidoglycan biosynthesis inhibitors: semisynthesis and SAR of their derivatives; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2341-2344.
- [118] A. Yamashita, E. Norton, P. J. Petersen, B. A. Rasmussen, G. Singh, Y. Yang, T. S. Mansour, D. M. Ho; Muraymycins, novel peptidoglycan biosynthesis inhibitors: synthesis and SAR of their analogues; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3345-3350.
- [119] A. Yamashita, E. Norton; (American Cyanid Company); Antibiotic AA 896 Analogs; WO2002086139, **2005**.
- [120] X.-F. Zhu, H. J. Williams, A. I. Scott; Facile and highly selective 5'-desilylation of multisilylated nucleosides; *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **2000**, 2305-2306.
- [121] A. G. Myers, D. Y. Gin, D. H. Rogers; Synthetic Studies of the Tunicamycin Antibiotics. Preparation of (+)-Tunicaminylluracil, (+)-Tunicamycin-V, and 5'-*epi*-Tunicamycin-V; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4697-4718.
- [122] L. Banfi, S. Cardani, D. Potenza, C. Scolastico; Stereoselective synthesis of *t*-butyl 2-amino-2,5-dideoxy-L-LYXO-pentanoate: Formal synthesis of L-daunosamine; *Tetrahedron* **1987**, *43*, 2317-2322.
- [123] S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Total Synthesis of Caprazol, a Core Structure of the Caprazamycin Antituberculosis Antibiotics; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1888-1890. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1854-1856.
- [124] S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Development of a Highly β -Selective Ribosylation Reaction without Using Neighboring Group Participation: Total Synthesis of (+)-Caprazol, a Core Structure of Caprazamycins; *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9936-9946.

- [125] S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Synthesis of Caprazamycin Analogues and Their Structure-Activity Relationship for Antibacterial Activity; *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 569-577.
- [126] T. Tanino, S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Synthetic study of muraymycins using Ugi-four component reaction; *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, *52*, 557-558.
- [127] T. Tanino, S. Ichikawa, M. Shiro, A. Matsuda; Total Synthesis of (-)-Muraymycin D2 and its Epimer; *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1366-1377.
- [128] G. Wittig, G. Geissler; Zur Reaktionsweise des Pentaphenyl-phosphors und einiger Derivate; *Liebigs Ann. Chem.* **1953**, *580*, 44-57.
- [129] B. Tao, G. Schlingloff, K. B. Sharpless; Reversal of Regioselection in the Asymmetric Aminohydroxylation of Cinnamates; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2507-2510.
- [130] S. Ichikawa, R. Hayashi, S. Hirano, A. Matsuda; Highly β -Selective C-Allylation of a Ribofuranoside Controlling Steric Hindrance in the Transition State; *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5107-5110.
- [131] B. A. Alewi, C. M. Schneider, M. Kurosu; Synthesis of Ureido-Muraymycidine Derivatives for Structure Activity Relationship Studies of Muraymycins; *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3859-3867.
- [132] A. P. Spork, M. Büschleb, O. Ries, D. Wiegmann, S. Boettcher, A. Mihalyi, T. D. Bugg, C. Ducho; Lead Structures for New Antibacterials: Stereocontrolled Synthesis of a Bioactive Muraymycin Analogue; *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 15292-15297.
- [133] A. P. Spork, S. Koppermann, B. Dittrich, R. Herbst-Irmer, C. Ducho; Efficient synthesis of the core structure of muraymycin and caprazamycin nucleoside antibiotics based on a stereochemically revised sulfur ylide reaction; *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 763-766.
- [134] V. K. Aggarwal, J. N. Harvey, J. Richardson; Unraveling the Mechanism of Epoxide Formation from Sulfur Ylides and Aldehydes; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5747-5756.
- [135] V. K. Aggarwal, J. G. Ford, A. Thompson, R. V. Jones, M. C. Standen; Direct Asymmetric Epoxidation of Aldehydes Using Catalytic Amounts of Enantiomerically Pure Sulfides; *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7004-7005.
- [136] F. Sarabia, L. Martín-Ortiz, F. J. López-Herrera; A Convergent Synthetic Approach to the Nucleoside-Type Liposidomycin Antibiotics; *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3927-3930.
- [137] F. Sarabia, L. Martín-Ortiz; Synthetic studies on nucleoside-type muraymycins antibiotics based on the use of sulfur ylides. Synthesis of bioactive 5'-epimuraymycin analogues; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11850-11865.

- [138] A. P. Spork, C. Ducho; Stereocontrolled synthesis of 5'- and 6'-Epimeric Analogues of Muraymycin Nucleoside Antibiotics; *Synlett* **2013**, 24, 343-346.
- [139] A. P. Spork, C. Ducho; Novel 5'-deoxy nucleosyl amino acid scaffolds for the synthesis of muraymycin analogues; *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 2323-2326.
- [140] A. P. Spork, D. Wiegmann, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho; Stereoselective Synthesis of Uridine-Derived Nucleosyl Amino Acids; *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 10083-10098.
- [141] O. Ries, M. Büschleb, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho; Amino acid motifs in natural products: synthesis of *O*-acylated derivatives of (2*S*,3*S*)-3-hydroxyleucine; *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, 10, 1135-1142.
- [142] T. Laib, J. Chastanet, J. Zhu; Diastereoselective Synthesis of γ -Hydroxy- β -amino Alcohols and (2*S*,3*S*)- β -Hydroxyleucine from Chiral D-(*N,N*-Dibenzylamino)serine (TBDMS) Aldehyde; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 1709-1713.
- [143] L. Horner, H. Hoffmann, H. G. Wippel; Phosphororganische Verbindungen, XII. Phosphinoxyde als Olefinierungsreagenzien; *Chem. Ber.* **1958**, 91, 61-63.
- [144] W. S. Wadsworth, W. D. Emmons; The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 1733-1738.
- [145] U. Zoller, D. Ben-Ishai; Amidoalkylation of mercaptans with glyoxylic acid derivatives; *Tetrahedron* **1975**, 31, 863-866.
- [146] R. G. Vaswani, A. R. Chamberlin; Stereocontrolled Total Synthesis of (-)-Kaitocephalin; *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 1661-1681.
- [147] U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild; Amino Acids and Peptides; XLIII. Dehydroamino Acids; XVIII. Synthesis of Dehydroamino Acids and Amino Acids from *N*-Acyl-2-(dialkyloxyphosphinyl)-glycin Esters; II; *Synthesis* **1984**, 53-60.
- [148] R. Hamzavi, F. Dolle, B. Tavitian, O. Dahl, P. E. Nielsen; Modulation of the Pharmacokinetic Properties of PNA: Preparation of Galactosyl, Mannosyl, Fucosyl, *N*-Acetylgalactosaminyl, and *N*-Acetylglucosaminyl Derivatives of Aminoethylglycine Peptide Nucleic Acid Monomers and Their Incorporation into PNA Oligomers; *Bioconjug. Chem.* **2003**, 14, 941-954.
- [149] M. J. Burk; C2-symmetric bis(phospholanes) and their use in highly enantioselective hydrogenation reactions; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8518-8519.
- [150] T. Masquelin, E. Broger, K. Müller, R. Schmid, D. Obrecht; Synthesis of Enantiomerically Pure D- and L-(Heteroaryl)alanines by asymmetric hydrogenation of (*Z*)- α -amino- α,β -didehydro esters: eine Veresterungsmethode; *Helv. Chim. Acta* **1994**, 77, 1395-1411.

- [151] D. Farquhar, D. N. Srivastva, N. J. Kuttess, P. P. Saunders; Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups; *J. Pharm. Sci.* **1983**, 72, 324-325.
- [152] J. K. Sastry, P. N. Nehete, S. Khan, B. J. Nowak, W. Plunkett, R. B. Arlinghaus, D. Farquhar; Membrane-Permeable Dideoxyuridine 5'-Monophosphate Analogue Inhibits Human Immunodeficiency Virus Infection; *Mol. Pharmacol.* **1992**, 41, 441-445.
- [153] A. Pompon, I. Lefebvre, J.-L. Imbach, S. Kahn, D. Farquhar; Decomposition pathways of the mono- and bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine 5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium: an application of the 'on-line ISRP-cleaning' HPLC technique; *Antiviral Chem. Chemother.* **1994**, 5, 91-98.
- [154] R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y. F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland; Metabolism and In Vitro Antiretroviral Activities of Bis(pivaloyloxymethyl) Prodrugs of Acyclic Nucleoside Phosphonates.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37, 2247-2250.
- [155] D. Farquhar, R. Chen, S. Khan; 5'-[4-(Pivaloyloxy)-1,3,2-dioxaphosphorinan-2-yl]-2'-deoxy-5-fluorouridine: A Membrane-Permeating Prodrug of 5-Fluoro-2'-deoxyuridylic Acid (FdUMP); *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 488-495.
- [156] B. L. Robbins, R. V. Srinivas, C. Kim, N. Bischofberger, A. Fridland; Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity and Cellular Metabolism of a Potential Prodrug of the Acyclic Nucleoside Phosphonate 9-*R*-(2-Phosphonomethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, 42, 612-617.
- [157] C. Ducho, Dissertation, Universität Hamburg, **2005**.
- [158] L. Mizen, G. Burton; The use of esters as prodrugs for oral delivery of beta-lactam antibiotics.; *Pharm. Biotechnol.* **1998**, 11, 345-365.
- [159] C. Meier, C. Ducho, H. Jessen, D. Vukadinović-Tenter, J. Balzarini; Second-Generation *cycloSal*-d4TMP Pronucleotides Bearing Esterase-Cleavable Sites — The “Trapping” Concept; *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 197-206.
- [160] A. L. Simplicio, J. M. Clancy, J. F. Gilmer; Prodrugs for amines; *Molecules* **2008**, 13, 519-547.
- [161] C. Gravier-Pelletier, M. Ginisty, Y. Le Merrer; A versatile scaffold for a library of liposidomycins analogues: a crucial and potent glycosylation step; *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 189-193.
- [162] R. R. Schmidt, J. Michel; Einfache Synthese von α - und β -*O*-Glycosylimidaten; Herstellung von Glycosiden und Disacchariden; *Angew. Chem.* **1980**, 92, 763-764. Facile Synthesis of α - and β -*O*-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, 19, 731-732.

- [163] K. Naresh, B. K. Bharati, P. G. Avaji, D. Chatterji, N. Jayaraman; Synthesis, biological studies of linear and branched arabinofuranoside-containing glycolipids and their interaction with surfactant protein A; *Glycobiology* **2011**, *21*, 1237-1254.
- [164] J. L. Chiara, L. Encinas, B. Díaz; A study of polymer-supported bases for the solution phase synthesis of glycosyl trichloroacetimidates; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2445-2448.
- [165] S. Guyenne, E. I. León, A. Martín, I. Pérez-Martín, E. Suárez; Intramolecular 1,8-Hydrogen Atom Transfer Reactions in Disaccharide Systems Containing Furanose Units; *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 7371-7391.
- [166] M. Gelin, V. Ferrieres, D. Plusquellec; A General and Diastereoselective Synthesis of 1,2-*cis*-Hexofuranosides from 1,2-*trans*-Thiofuranosyl Donors; *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1423-1432.
- [167] K. Mannerstedt, K. Ekelöf, S. Oscarson; Evaluation of thioglycosides of Kdo as glycosyl donors; *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 631-637.
- [168] M. Ludewig, J. Thiem; Synthesis of a Fucose Hexasaccharide; *Synthesis* **1998**, *1998*, 56-62.
- [169] B. Fraser-Reid, U. E. Udodong, Z. Wu, H. Ottosson, J. R. Merritt, C. S. Rao, C. Roberts, R. Madsen; *n*-Pentenyl Glycosides in Organic Chemistry: A Contemporary Example of Serendipity; *Synlett* **1992**, 927-942.
- [170] *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life* (Hrsg.: R. V. Stick, S. J. Williams), Elsevier, Amsterdam, Boston, **2009**.
- [171] T. Tanino, B. Al-Dabbagh, D. Mengin-Lecreulx, A. Bouhss, H. Oyama, S. Ichikawa, A. Matsuda; Mechanistic Analysis of Muraymycin Analogues: A Guide to the Design of MraY Inhibitors; *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8421-8439.
- [172] Y. Hiramatsu, K. Hasada, F. Amano, Y. Tsubota, Y. Wasada-Tsutsuil, N. Shirai, S.-i. Ikeda, K. Odashima; Highly selective recognition of adenine nucleobases by synthetic hosts with a linked five-six-five-membered tri-hetero-aromatic structure and the application to potentiometric sensing of the adenine nucleotide; *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7733-7741.
- [173] D. Wiegmann, Masterarbeit, Georg-August-Universität Göttingen **2012**.
- [174] A. P. Spork, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [175] A. Lemke, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2013**.
- [176] M. Shi, Bachelorarbeit, Universität Paderborn, **2013**.
- [177] M.-A. Cassano, Bachelorarbeit, Universität Paderborn, **2014**.

- [178] R. K. Boeckman, J. Shao P., J. J. Mullins; The Dess-Martin Periodinane: 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-one; *Org. Synth.* **2000**, 77, 141.
- [179] M. Tomoi, Y. Kato, H. Kakiuchi; Polymer-supported bases, 2. Polystyrene-supported 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene as reagent in organic syntheses; *Macromol. Chem.* **1984**, 185, 2117-2124.
- [180] M. Ravenscroft, R. M. Roberts, J. G. Tillett; The Reaction of Some Cyclic and Open-chain Disulphides with Methyl Trifluoromethanesulphonate; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1982**, 1569-1572.
- [181] H. Jessen, Dissertation, Universität Hamburg, **2008**.
- [182] A. J. Davies, A. S. R. Donald, R. E. Marks; The Acid-catalysed Decomposition of Some β -Azido-carbonyl Compounds; *J. Chem. Soc. (C) Org.* **1967**, 2109-2112.
- [183] H. Brechbühler, H. Büchi, E. Hatz, J. Schreiber, A. Eschenmoser; Die Reaktion von Carbonsäuren mit Acetalen des *N,N*-Dimethylformamids: eine Veresterungsmethode; *Helv. Chim. Acta* **1965**, 48, 1746-1771.
- [184] M. Y. H. Lai, M. A. Brimble, D. J. Callis, P. W. R. Harris, M. S. Levi, F. Sieg; Synthesis and pharmacological evaluation of glycine-modified analogues of the neuroprotective agent glycyl-L-prolyl-L-glutamic acid (GPE); *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 533-548.
- [185] H. Staudinger, J. Meyer; Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylderivate und Phosphinimine; *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646.
- [186] Q. Su, L. A. Dakin, J. S. Panek; [4 + 2]-Annulations of Chiral Organosilanes: Application to the Total Synthesis of Leucascandrolide A; *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 2-24.
- [187] K. Tsunashima, M. Ide, H. Kadoi, A. Hirayama, M. Nakata; Synthesis of the C15-C27 portion of venturicidins: a formal total synthesis of venturicidin X; *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3607-3611.
- [188] S. Wohnig, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2013**.
- [189] C. M. Schütz, Masterarbeit, Universität des Saarlandes, **2016**.
- [190] H. Fenniri, P. Mathivanan, K. L. Vidale, D. M. Sherman, K. Hallenga, K. V. Wood, J. G. Stowell; Helical Rosette Nanotubes: Design, Self-Assembly, and Characterization; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3854-3855.
- [191] A. Dose, S. Liokatis, F.-X. Theillet, P. Selenko, D. Schwarzer; NMR Profiling of Histone Deacetylase and Acetyl-transferase Activities in Real Time; *ACS Chem. Biol.* **2011**, 6, 419-424.

- [192] O. V. Larionov, A. de Meijere; Enantioselective Total Syntheses of Belactosin A, Belactosin C, and Its Homoanalogue; *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2153-2156.
- [193] M. Büschleb, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [194] J. H. Tsai, L. R. Takaoka, N. A. Powell, J. S. Nowick; Synthesis of Amino Acid Ester Isocyanates: Methyl (S)-2-Isocynato-3-phenylpropanoate; *Org. Synth.* **2003**, *78*, 220.
- [195] J. D. More, N. S. Finney; A Simple and Advantageous Protocol for the Oxidation of Alcohols with *o*-Iodoxybenzoic Acid (IBX); *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001-3003.
- [196] R. Mazurkiewicz, A. Kuźnik, M. Grymel, N. Kuźnik; ¹H NMR spectroscopic criteria for the configuration of *N*-acyl- α,β -dehydro- α -amino acid esters; *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 36-40.
- [197] F. Sarabia, A. Sánchez-Ruiz, S. Chammaa; Stereoselective synthesis of E-64 and related cysteine proteases inhibitors from 2,3-epoxyamides; *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1691-1705.
- [198] F. J. López-Herrera, F. Sarabia-García, G. M. Pedraza-Cebrián, M. S. Pino-González; Stereoselective Synthesis of Precursors of the Macrolide Antibiotics *via* Reactions of Sulfur Ylides with Chiral Aldehydes; *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1379-1380.
- [199] M. S. Pino-González, C. Assiego, F. J. López-Herrera; Iminosugars from α,β -epoxyamides. Part 1: Synthetic approach to hydroxylated piperidine derivatives; *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8353-8356.
- [200] C. Assiego, M. S. Pino-González, F. J. López-Herrera; Iminosugars from α,β -epoxyamides. Part 2: Synthetic approach to hydroxylated pyrrolidine and azepane derivatives; *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2611-2613.
- [201] L. Martín-Ortiz, S. Chammaa, M. S. Pino-González, A. Sánchez-Ruiz, M. García-Castro, C. Assiego, F. Sarabia; Isomerization of *E*- α,β -epoxyamides to *Z*- α,β -epoxyamides and synthetic applications based on regio- and stereoselective oxirane ring openings; *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9069-9072.
- [202] G. Righi, G. Rumboldt; A Simple Route to *syn* α -Amino- β -Hydroxy-Esters by C-2 Regioselective Opening of α,β -Epoxy Esters with Metal Halides; *Tetrahedron* **1995**, *51*, 13401-13408.
- [203] D. Wiegmann, Bachelorarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2010**.
- [204] R. Kadyrov; Low Catalyst Loading in Ring-Closing Metathesis Reactions; *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 1002-1012.
- [205] C. Meier, M. F. H. Ruppel, D. Vukadinović-Tenter, J. Balzarini; Second Generation of *cycloSal*-Pronucleotides with Esterase-Cleavable Sites: The “Lock-In”-Concept; *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2004**, *23*, 89-115.

- [206] C. Meier, M. F. H. Ruppel, D. Vukadinović-Tenter, J. Balzarini; “Lock-in”-cycloSal-Pronucleotides - A New Generation of Chemical Trojan Horses?; *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 383-394.
- [207] B. Drouillat, Y. Bourdreux, D. Perdon, C. Greck; Synthetic route towards (5*R*,2'*S*,5'*S*,6'*S*)-ribosyl-diazepanone, an analogue core of the liposidomycins; *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1955-1963.
- [208] A. Mehta, R. Jaouhari, T. J. Benson, K. T. Douglas; Improved Efficiency and Selectivity in Peptide Synthesis: Use of Triethylsilane as a Carbocation Scavenger in Deprotection of *t*-Butyl Esters and *t*-Butoxycarbonyl-Protected sites; *Tetrahedron: Asymmetry* **1992**, *33*, 5441-5444.
- [209] M. Rusch, T. J. Zimmermann, M. Bürger, F. J. Dekker, K. Görmer, G. Triola, A. Brockmeyer, P. Janning, T. Böttcher, S. A. Sieber, I. R. Vetter, C. Hedberg, H. Waldmann; Identification of Acyl Protein Thioesterases 1 and 2 as the Cellular Targets of the Ras-Signaling Modulators Palmostatin B and M; *Angew. Chem.* **2011**, *127*, 10012-10016. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9838-9842.
- [210] S. Koppermann, A. P. Spork, S. Wohnig, K. Leyrer, O. Ries, D. Wiegmann, C. M. Schütz, M. Raszkwiecki, C. Ducho; unpublished results.
- [211] M. Fridman, V. Belakhov, S. Yaron, T. Baasov; A New Class of Branched Aminoglycosides: Pseudo-Pentasaccharide Derivatives of Neomycin B; *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3575-3578.
- [212] H. Nakamura, T. Yoshida, C. Tsukano, Y. Takemoto; Synthesis of CPZEN-45: Construction of the 1,4-Diazepin-2-one Core by the Cu-Catalyzed Intramolecular Amidation of a Vinyl Iodide; *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2300-2303.
- [213] F. Graef, B. Vukosavljevic, J.-P. Michel, M. Wirth, O. Ries, C. De Rossi, M. Windbergs, V. Rosilio, C. Ducho, S. Gordon, C.-M. Lehr; The bacterial cell envelope as delimiter of anti-infective bioavailability - An *in vitro* permeation model of the Gram-negative bacterial inner membrane; *J. Con. Rel.* **2016**, *243*, 214-224.

9. Anhang

9.1 HPLC-Methoden

9.1.1 Analytische HPLC-Methoden

Methode QC_grad_pos_acid_60_600:

HPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MWD (250.0), MS, Flussrate:
0.8 mL/min, Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)
Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	17	20	21	25
B [%]	5	100	100	5	5

Methode QC_grad_pos_acid_2000:

HPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MWD (250.0), MS, Flussrate:
0.8 mL/min, Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)
Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	19	22	23	25
B [%]	5	100	100	5	5

9.1.2 Semipräparative HPLC-Methoden

Methode DWP269:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	36	44	44.1
B [%]	5	100	100	1

Methode DWP289:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
 Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
 Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	30	34	44	44.1
B [%]	25	70	100	100	25

Methode DWP315:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
 Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
 Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	36	40	44	44.1
B [%]	5	70	100	100	1

Methode DWP315_2:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
 Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
 Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	36	40	44	44.1
B [%]	5	60	100	100	1

Methode DWP392:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
 Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
 Eluenten: A - Wasser (0.1% TFA); B - Acetonitril (0.1% TFA)

t [min]	0	36	40	44	44.1
B [%]	5	40	100	100	1

9.2 LC-MS/MS-Methoden für die Stabilitätsmessungen der Muraymycin-Prodrugs

Methode für die Messungen am HIPS Saarland

UHPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MS/MS, Flussrate: 0.55 mL/min, Säule: Accucore RP-MS-C18 150/2.1 2.6 μ (2.6 μ m, 2.1 x 150 mm)
Eluenten: A - Wasser (0.1% FA); B - Acetonitril (0.1% FA)

t [min]	0	0.40	1.60	2.70	2.71	3.50
B [%]	23	23	99	99	23	23

Methode für die Messungen am Pharmakologischen Institut der UdS in Homburg:

UHPLC-Anlage: *ThermoFisher Scientific*, Detektor: Orbitrap-MS, Flussrate: 0.5 mL/min, Säule: Accucore PhenylHexyl column (2.6 μ m, 2.1 x 100 mm)
Eluenten: A - Wässrige Ammoniumformiatlösung (2 mM) (0.1% FA, 1% Acetonitril, pH 3); B - Ammoniumformiatlösung (2 mM) in Acetonitril:Methanol (50:50) (0.1% FA, 1% Wasser)

t [min]	0	7	7.1	7.9	10.1
B [%]	0.5	60	95.5	95.5	0.5

9.3 Lebenslauf

Daniel Wiegmann, M.Sc.

Persönliches

Geburtsdatum: 05.02.1988
Geburtsort: Twistringen
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Sprachkenntnisse: Deutsch (Muttersprache)
Englisch (verhandlungssicher)
Französisch (Grundkenntnisse)
Familienstand: Ledig, keine Kinder



Studium

03/2014 - 12/2016: Fortführung der Promotion am Lehrstuhl für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Universität des Saarlandes unter der Leitung von Prof. Dr. C. Ducho.

11/2012 - 02/2014: Beginn der Promotion am Department Chemie der Universität Paderborn, Organische Chemie, bei Prof. Dr. C. Ducho zum Thema „*Neue Strategien zur Entwicklung von Derivaten der Muraymycin-Antibiotika mit verbesserter biologischer Aktivität*“.

03/2012 - 09/2012: Masterarbeit zum Thema „*Synthetische Untersuchungen zur Nucleosid-Einheit von Muraymycin-Antibiotika und ihren Analoga*“ (Note 1.0). Die Masterarbeit fand extern an der Universität Paderborn statt.

10/2010 - 09/2012: Masterstudiengang Chemie mit dem Schwerpunkt Organische Chemie an der Georg-August-Universität Göttingen (Note 1.2, mit Auszeichnung).

04/2010 - 08/2010: Bachelorarbeit zum Thema „*Synthese neuer 5'-Desoxy-Muraymycin-Analoga*“ (Note 1.0).

10/2007 - 09/2010: Bachelorstudiengang Chemie an der Georg-August-Universität Göttingen (Note 1.3).

Schulbildung

06/2007: Allgemeine Hochschulreife, Note: „gut“ (1.6).
 07/1998 - 06/2007: Besuch des staatlich anerkannten Gymnasiums für Jungen Kolleg St. Thomas der Dominikaner in Vechta.
 07/1994 - 06/1998 Besuch der Grundschule 1B in Scharrendorf.

Stipendien

05/2016 Travel Award der International Society of Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids (IS3NA) für den 22. Internationalen Roundtable 2016 (XXII IRT) am Institut Pasteur in Paris.
 06/2013 - 05/2016: Promotionsstipendiat der Konrad-Adenauer-Stiftung.
 10/2011 - 03/2012: ERASMUS-Auslandssemester an der University of Manchester (Manchester Interdisciplinary Biocentre MIB) zum Thema „*Synthesis of “steroid like” coumarin derivatives using borrowing hydrogen methodology and subsequent studies of P450 oxidation as well as inhibition studies of NQO1*“.

Publikationen

- [1] A. P. Spork, D. Wiegmann, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho; Stereoselective Synthesis of Uridine-Derived Nucleosyl Amino Acids; *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 10083-10098.
- [2] A. P. Spork, M. Büschleb, O. Ries, D. Wiegmann, S. Boettcher, A. Mihalyi, T. D. H. Bugg, C. Ducho; Lead Structures for New Antibacterials: Stereocontrolled Synthesis of a Bioactive Muraymycin Analogue; *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 15292-15297.
- [3] D. Wiegmann, S. Koppermann, M. Wirth, G. Niro, K. Leyrer, C. Ducho; Muraymycin nucleoside-peptide antibiotics: uridine-derived natural products as lead structures for the development of novel antibacterial agents; *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.

Poster-Präsentationen auf wissenschaftlichen Konferenzen

- [1] D. Wiegmann, A. P. Spork, C. Ducho; Synthesis of novel analogues of muraymycin nucleoside antibiotics; DNG 2013 VI. Nukleinsäurechemie-Treffen, Universität Greifswald, Deutschland, September **2013**.
- [2] D. Wiegmann, C. Ducho; Synthesis of novel analogues of muraymycin nucleoside antibiotics; 4th International HIPS Symposium, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Deutschland, Juni **2014**.
- [3] D. Wiegmann, C. Ducho; Synthetic studies on muraymycin nucleoside antibiotics and their analogues; XXI. International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, Posen, Polen, August **2014**.
- [4] D. Wiegmann, C. Ducho; Synthetic studies on aminoribosylated muraymycin nucleoside antibiotics and their analogues; XXII. International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, Paris, Frankreich, Juli **2016**.



Saarbrücken, im November 2016

Zunächst danke ich Herrn Prof. Dr. Christian Ducho dafür, dass er mir ermöglicht hat meine Dissertation in seiner Abteilung anzufertigen. Zudem danke ich ihm für die interessante Aufgabenstellung, seine stete Hilfsbereitschaft, seine vielen Anregungen und die gute Atmosphäre in seiner Arbeitsgruppe.

Ich bedanke mich auch bei Herrn Prof. Dr. Rolf W. Hartmann für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern aus der Abteilung von Prof. Dr. Christian Ducho, allen voran meinen Mitbewohnern Kristin Leyerer und Marius Wirth für ihre Hilfe und moralische Unterstützung. Zudem danke ich Verena Böttner, Philine Kirsch, Ruth Linder, Theresa Manz, Melissa Meng, Giuliana Niro, Patrick Fischer, Malte-Ole Schneemann, Christian Schütz, Anke Lemke und Stephanie Wohnig sowie Dr. Matthias Engel und Dr. Martin Frotscher für ihre Hilfsbereitschaft und die gute Atmosphäre. Ein ganz besonderer Dank geht an die biologische Abteilung um Stefan Koppermann, Stefan Boettcher, Martina Jankowski und Jannine Ludwig, die die biologische Evaluierung übernommen haben. Allen Mitarbeitern danke ich zusätzlich für das Korrekturlesen dieser Arbeit. Des Weiteren danke ich Mengxi Shi und Marcel-André Cassano, deren praktische Tätigkeiten ich im Rahmen ihrer Bachelorarbeiten betreuen durfte, sowie meinen Wahlpflichtpraktikanten Kristin Leyerer, Jasmin Senzig und Patrick Fischer für die hervorragende Zusammenarbeit.

Ich danke zudem der NMR-Abteilung des Departments Chemie der Universität Paderborn Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Egold und seinen Mitarbeiterinnen Frau K. Stolte und Frau M. Zukowski sowie Herrn Dr. Josef Zapp aus dem Fachbereich Pharmazie der Universität des Saarlandes für die zuverlässige Messung unzähliger Spektren. Für die Messung hochaufgelöster Massen danke ich Eva Luxenburger aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Rolf Müller (HIPS) sowie Malte Holzapfel aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wolfgang Maison an der Universität Hamburg.

Des Weiteren geht ein großer Dank an die Mitarbeiter der Abteilung von Prof. Dr. Rolf W. Hartmann und der Abteilung von Dr. Alexander Titz, Juliette Emmerich, Martina Fruth, Kristina Hüsecken, Ines Joachim, Christine Maurer, Lilli Weidel, Christian "Coach" Brengel, Martin Empting, Dirk Hauck, Stefan Hinsberger, Benjamin Kirsch, Henning Sahner, Roman Sommer, Michael Storz, Andreas Thomann und Michael Zender, die der Arbeitsgruppe Ducho einen gelungenen Start im Saarland bereitet haben.

Ein ganz besonderer Dank gilt allen Freunden und Bekannten, die mich in den letzten neun Jahren ein Stück auf meinem Lebensweg und durch meine Zeit in Göttingen, Paderborn und Saarbrücken begleitet haben.

Dabei danke ich dem Rest der Göttinger "POD-Crew" Oliver Mitevski und Patrick Drawe sowie Philipp Rudolph, Daniel Falkowski, Jonathan Hubrich, Bastian Brückner und Martin Gleisner, mit dem ich ein geiles Semester in Manchester verbringen durfte.

Ich danke all meinen Freunden aus der Planckstraße 5 in Göttingen und der "Krassen Herde" Miriam und Christian Bergenthal, Katharina Mönninghoff und Markus Wagner, Jennifer Radwitz, Eva Maria und Michael Weiß, Sophia Weiß, Alexander "Babo" Bartsch und Konstantin Lehmann für eine unglaublich schöne Zeit, immer wieder, wenn ich nach Göttingen komme. Zudem danke ich Filip Podjaski und Vincent Hasselgruber sowie Christina Berkhan und Stefan Laupichler, bei denen immer ein warmes Bett für mich bereit war.

Ein großer Dank geht nach Paderborn an Ulf, Arne, Stefan, David und Marko, die das ein oder andere Mal den weiten Weg ins Saarland für einen Besuch auf sich nahmen.

In Saarbrücken danke ich darüber hinaus meiner Stipendiatengruppe der Konrad-Adenauer-Stiftung vor allem dem "Harten Kern" für eine intensive und ereignisreiche Zeit im Saarland. Der "Spritwoch"-Truppe um Alexander Kiefer, Simon Probst, Malte-Ole Schneemann, Lorenz Siebenbürger, Marius Wirth, Andreas "Ähndy" Thomann und Michael "Mize" Zender danke ich für zahlreiche lustige Abende. Zudem danke ich der Toskana-Truppe für zwei wunderschöne Sommerurlaube sowie Jana Bone und "2+2" für die schöne Zeit. Außerdem danke ich Marilena Vivacqua für die seelische und moralische Unterstützung in den letzten Monaten meiner Promotion.

Der wichtigste Dank gilt jedoch meiner Familie, meinem Vater Georg, meiner Schwester Sara und meinem Schwager Henning, für die Hilfe, die bedingungslose Unterstützung, für die vielen offenen Ohren, für das gemeinsame Zusammenstehen in schwierigen Situationen und das gemeinsame Überstehen von schweren Zeiten. All meinen übrigen Verwandten danke ich für die Begleitung auf meinem Lebensweg.

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei meiner Mutter Brigitte, die leider viel zu früh von uns gehen musste und der ich diese Arbeit widme. Danke Mama, dass du mir geholfen hast der Mensch zu werden, der ich heute bin, dass du mich immer unterstützt hast, dass du immer für mich da warst wenn es mir schlecht ging und dass du bis zum Schluss an mich geglaubt hast.

